Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen an einigen Kulturen des sogenannten Saccharomyces apiculatus. Reess.

Dr. Ing. Rudolf Guggenheimer.

„Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen an einigen Kulturen des sogenannten Saccharomyces apiculatus. Reess.

Von der

K. Technischen Hochschule zu München

zur Erlangung der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften (Doktor-Ingenieurs) genehmigte Dissertation.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Vorgelegt von

Diplom-Ingenieur **Rudolf Guggenheimer**

aus Memmingen.

Referent:
Prof. Dr. Carl Lintner.

Korreferent:
Prof. Dr. Andreas Lipp.

Tag der Annahme der Dissertation: 27. Juni 1913.

München 1913.

Druck von E. Janich, Gabelsbergerstr. 76.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung des Herrn Prof. **Dr. H. Will** in der physiologischen Abteilung der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München ausgeführt.

Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor **Dr. H. Will,** für seine liebenswürdige Unterstützung während der Dauer meiner Arbeit meinen herzlichsten Dank zum Ausdruck zu bringen.

Einleitung.

Als Saccharomyces apiculatus wurde von Reess in seinen im Jahre 1870 erschienenen „Botanischen Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze“ ein Sprosspilz bezeichnet, dessen charakteristisches Merkmal darin besteht, dass die im allgemeinen elliptischen Zellen an den beiden Polen in eine kurze Spitze ausgezogen sind. Die Zellform ist also mit der Gestalt einer Zitrone zu vergleichen.

Reess stellte fest, dass der von ihm zum erstenmale als besondere Spezies unterschiedene Sprosspilz ein regelmässiger und oft massenhaft auftretender Gemengteil der Weinhefen ist.

Sehr wahrscheinlich hatte Pasteur nach der Darstellung, welche er zuerst im Jahre 1902 im „Bulletin de la Société dimique de Paris“ von Hefen, welche im gärenden Most vorkommen, gab (die Abbildung ist in den „Études sur la bière“ auf S. 149 reproduziert) schon früher den Sacch. apiculatus gesehen, benannt hat er jedoch die verschiedenen Hefen nicht. Auch der von Kützing als Kryptococus vini erwähnte Pilz[1]) dürfte ein Vertreter des sog. Sacch. apiculatus gewesen sein.

Wir wissen heute, dass der Sacch. apiculatus, dessen Vorkommen auf den verschiedenartigen Früchten und von hier aus im Erdboden festgestellt ist, nicht nur bei der Trauben- und Obstweingärung auftritt und bei dieser als Schädling durch Behinderung der Vermehrung der eigentlichen Weinhefen und durch Erzeugung unange-

[1]) Hofmeister, Handbuch II. 181.

nehmer Geschmacksstoffe[1]) wirkt, sondern dass er sich auch in Bierbrauereien, die weitab von Weinbaugegenden und grösseren Obstbaumanlagen liegen, einschleicht und hier Schaden bringt.

Zu der Gattung der Saccharomyces glaubte Reess jenen Sprosspilz, obgleich er Sporenbildung nicht beobachtet hatte, deshalb stellen zu dürfen, weil er sich im übrigen in den wesentlichen Eigenschaften den Saccharomyceten anschloss. Er vermehrt sich also vegetativ, wie jene durch Sprossung und vermag in gewissen zuckerhaltigen Flüssigkeiten alkoholische Gärung hervorzurufen. Sehr viel mehr hat Reess über die neue Saccharomyces-Spezies nicht mitgeteilt.

Inwieweit die Bezeichnung der Formengruppe von Sprosspilzen mit zitronenförmigen Zellen mit dem Gattungsnamen Saccharomyces, die Zuteilung zu der sporenbildenden Familie der Saccharomyceten berechtigt ist, das soll später diskutiert werden. Hier möge zunächst nur darauf hingewiesen sein, dass H. Zikes[2]) sich gegen die Berechtigung des Speziesnamen „apiculatus“ gewendet hat. Das Wort ist, wie er ausführt, vom lateinischen Apex (Priester — Mütze) aber nicht richtig abgeleitet; es müsste apicatus heissen, während apiculatus sich von apicula ableitet. Zur Charakterisierung des Spezies hätte eher die Bezeichnung mucronatus verwendet werden sollen.

Bemerkt sei, dass Reess vielleicht ursprünglich den Sprosspilz Sacch. citronatus nennen wollte. In seinen „Botanische Untersuchungen über Alkoholgärungspilze“ gebraucht er nämlich auf S. 28 in demselben Absatz die Bezeichnung Sacch. apiculatus und gleichzeitig, wenn auch offenbar nur versehentlich, Sacch. citronatus, eine Bezeichnung, die im übrigen nicht wiederkehrt. Neuere

---

[1]) Vgl. H. Will, Notiz betreffend den Nachweis von wilden Hefenarten in Brauereihefen und Jungbieren, sowie das Vorkommen des Sacch. apiculatus in denselben. Zeitschr. ges. Brauw. 1893, 16, S. 29 und ebenda 1896, 19, S. 555.

[2]) Centralbl. Bakteriologie II. Abt. 1911, 30, S. 149.

Untersuchungen haben gezeigt, dass Zuspitzung der Zellen nicht auf die Vertreter der Gruppe Sacch. apiculatus beschränkt ist, sondern dass sie, wenn auch nicht regelmässig, auch bei anderen Sprosspilzgruppen, beispielsweise bei Saccharomyces Ludwigii Hansen, bei den Torulaceen [1]), ja gelegentlich selbst bei Kulturhefen auftritt.

Die Zuspitzung ist eben eine der möglichen Variationen, welche die Grundform der Sprosspilzzellen, die Kugelform, einzugehen vermag. Die Form ist also umsoweniger dafür ausschlaggebend, ob eine vorliegende Zelle einer Art oder Varietät der Gruppe der sog. Sacch. apiculatus zugehört, als bei diesen selbst die Zellform regelmässig variiert.

Wenn der Sacch. apiculatus unter den Bedingungen, unter welchen die übrigen von Reess studierten Saccharomyceten endogene Sporen bilden, solche nicht zu erzeugen vermochte, so sah das Reess zunächst noch nicht als ausschlaggebenden Grund an, die Apiculatusformen ausserhalb der Gattung Saccharomyces zu einer besonderen Gruppe zu vereinigen. Er bezeichnet allerdings selbst ihre Zugehörigkeit zu den Saccharomyceten als fraglich und gliedert sie diesen einstweilen als unvollständig bekannte Art an. Er nahm an, dass nicht für alle Saccharomyceten gleichmässig dieselben Bedingungen erfüllt sein müssten, wenn die Zellen zur Sporenbildung gelangen sollen und spricht sich dahin aus, dass es vielleicht doch noch gelingen würde, das richtige Kulturverfahren zu finden. Engel [2]) glaubte eine ganz neue Fruchtform an dem Sprosspilz gefunden zu haben und gab ihm den Namen Carpozyma. Spätere Untersuchungen haben die Angaben Engels nicht bestätigen können. Emil Chr. Hansen [3]) hat bei Sacch. apiculatus niemals Sporenbildung beobachtet. Die Möglichkeit einer Verwechslung anderer Inhaltsbestandteile der

[1]) Vgl. H. Will, „Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen.“ Centrbl. Bakt. II. Abt. 1906, 17, S. 82.

[2]) „Les ferments alcooliques Thèse.“ Paris 1872, S. 52.

[3]) Compt. rend. Carlsberg Laborat. Bd. 1, 1881, S. 173.

Zellen mit Sporen liegt, solange nicht der Gegenbeweis durch das Auskeimen der in Frage stehenden Gebilde unzweideutig geliefert ist, vor. Schon Reess macht darauf aufmerksam, dass sich in den Zellen des sog. Sacch. apiculatus zuweilen das Protoplasma zu einer zentralen Kugel von Sporenform und Aussehen verdichtet. Nach Fig. 11, Tafel III, befindet sich aber offenbar diese zentrale Kugel innerhalb einer grossen Vakuole und muss wohl nach neueren Beobachtungen in anderer Weise gedeutet werden. Keinesfalls liegt eine Spore vor.[1])

Einer Täuschung, welche durch gewisse Inhaltsbestandteile der Apiculatuszellen veranlasst war, ist wohl M. W. Beijerinck anheimgefallen, wenn er glaubte, bei Sacch. apiculatus 4—6 Ascosporen beobachtet zu haben. Seine Mitteilung ist allerdings nur sehr kurz und wird nur gelegentlich in einer Fussnote gemacht.[2]) A. Klöcker[3]) teilt im Anschluss an die Beobachtung von Beijerinck mit, dass es ihm niemals gelungen sei, durch Gipsblockkultur den Sacch. apiculatus zur Sporulation zu bringen. Er hat auch vergebens an den natürlichen Aufenthaltsorten des Sprosspilzes (süsse Früchte) nach Zellen mit Sporen gesucht.

Lindner teilte im Jahre 1903 mit,[4]) dass er bei einer aus Robinia-Blüten gewonnenen Apiculatushefe in der Tröpfchenkultur mit Bierwürze Sporen gefunden habe. Die Abbildung von Zellen mit je einem als Spore bezeichneten Inhaltsbestandteil nach photographischen Aufnahmen, die er sowohl in der Wochenschrift[5]), als auch in dem „Atlas der mikroskopischen Grundlage der Gärungs-

[1]) Vgl. H. Will, „Anatomie der Hefenzellen", Handbuch der Technischen Mykologie von Fr. Lafar, Bd. 4, S. 79. W. Henneberg, „Morphologisch-physiologische Untersuchungen des Innern der Hefenzellen (ein Beitrag zur Erkennung des physiologischen Zustandes der Hefe)". Wochenschr. für Brauerei, 1912, 29, S. 321.

[2]) Centralbl. f. Bakt. I 1894, Bd. 16, S. 52, Anm.

[3]) Compt. rend. Carlsberg Laborat. Bd. 4, 1895, S. 20.

[4]) P. Lindner. Wochenschr. f. Brauerei, 1903, Bd. 20. S. 505. „Sporenbildung bei Saccharomyces apiculatus". (Mit zwei Abbildungen.)

[5]) a. a. O.

kunde", 2. Aufl. (Tafel 123) gibt, lassen bei der mangelnden Schärfe der Bilder umsoweniger mit Sicherheit die Annahme rechtfertigen, dass Sporen vorgelegen haben, als ein Auskeimen der fraglichen Gebilde nicht herbeizuführen war. In der Abbildung nach 1200facher Vergrösserung ist innerhalb einiger Zellen ein Gebilde zu erkennen, das sich durch eine nicht sehr scharfe Umgrenzungslinie von stärkerem Lichtbrechungsvermögen von dem Zelleninhalt abhebt. Das Lichtbrechungsvermögen des abgrenzenden Raumes scheint mit demjenigen des übrigen Zelleninhaltes übereinzustimmen. Auch Müller-Thurgau[1]) äussert Zweifel über die Sporennatur der fraglichen Gebilde. Lindner meint jedoch, es wäre zu weit gegangen, wenn man diesen die Sporennatur absprechen würde, weil die Keimung noch nicht gefunden wurde.

Lindner spricht sich dahin aus, dass möglicherweise die Sporen erst dann auskeimten, wenn sie analog dem Samen des Johannisbrotbaumes den Darmkanal von Tieren passiert haben.

Röhling[2]) hat eine Reihe von Reinkulturen des Sacch. apiculatus, welche er aus unter verschiedenen Obststräuchern entnommenen Erdproben und aus vergorenem Erdbeersaft gewonnen hatte, auf Sporenbildung untersucht. Die Kulturen waren durch 24stündige Vermehrung bei 25° in sterilem Traubenmost vorbereitet worden. Am achten Tage fanden sich auf den angelegten Gipsblockkulturen (bei welcher Temperatur diese gestanden, ist nicht angegeben) vereinzelt, am zehnten Tage bei allen Kulturen grosse Mengen sporenähnlicher Gebilde vor. Die vielfach ausgeführten Versuche, diese sporenähnlichen Gebilde in frischem Traubensaft oder frischer Bierwürze in hängenden Tropfen zur Auskeimung zu bringen, gelangen jedoch nicht.

Röhling griff daher den von Lindner ausgesprochenen Gedanken in der Weise auf, dass er Zellen mit

---

[1]) Lafar F., „Handbuch der Technischen Mykologie", Bd. 4, S. 316.

[2]) A. Röhling, „Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen des Sacch. apiculatus". Diss. Erlangen. 1905.

den sporenähnlichen Gebilden in einem Pferdemistdekokt, das einen Zusatz von 5 % Glukose erhalten hatte, verteilte und in hängenden Tropfen der Mischung eine sporenhaltige Zelle während 20 Stunden beobachtete.

Anscheinend hat sich Röhling damit begnügt, das Auskeimen nur bei einer einzigen Spore zu beobachten. Die dabei sich abspielenden Vorgänge, welche damit endeten, dass in der Mutterzelle nach 14 Stunden zwei Zellen lagen, die sich von einander nicht mehr unterschieden — die Spore und die von ihr durch direkte Sprossung erzeugte Tochterzelle hatten typische Apiculatus-Gestalt angenommen — sind allerdings völlig beweiskräftig.

Immerhin wäre es wünschenswert gewesen, wenn die Beobachtungen wiederholt worden wären.

Die von Röhling untersuchte Kultur hatte zum ersten Male die Forderung erfüllt, welche als Beweis für die Sporennatur eines innerhalb von Hefenzellen auftretenden Gebildes gestellt wird. Röhling schloss daraus mit Recht, dass seiner Hefe der Gattungsname Saccharomyces zukommt. Damit war aber noch nicht die Frage klargelegt, ob alle Sprosspilze mit zugespitzten Zellen zu den Saccharomyceten zu rechnen sind.

Es bleibt immer noch die Möglichkeit bestehen, dass die Sprosspilze mit zugespitzten Zellen, die ganz allgemein bis dahin als Sacch. apiculatus bezeichnet wurden, sich in zwei Gruppen teilen, von welchen die eine, vielleicht die kleinere, endogene Sporen bildet, während der anderen das Sporenbildungsvermögen abgeht. Dabei bleibt noch zu erwägen, ob nicht ursprünglich sporogene Formen durch besondere, nicht näher bekannte Verhältnisse asporogen geworden sind. Diese Möglichkeit ist umsomehr ins Auge zu fassen, als ja bekanntlich Hansen[1]) gezeigt hat, dass gewisse Saccharomyceten durch eine bestimmte Behandlungsweise das Sporenbildungsvermögen verlieren. Während ich selbst mit der Prüfung der im

[1]) Compt. rend. Carlsberg Laborat. 1900, Bd. 5, S. 1.

folgenden beschriebenen Apiculatus-Formen auf Sporenbildung beschäftigt und nur zu negativen Ergebnissen gelangt war, erschien eine kurze vorläufige Mitteilung von Alb. Klöcker[1]), welche die Angaben von Röhling bestätigte. Klöcker schreibt: „Ferner ist es mir gelungen bei einigen anderen, ebenfalls ganz Sacch. apiculatus ähnlichen Formen mit endogener Sporenbildung die Keimung zahlreicher Sporen unter dem Mikroskop zu verfolgen. Es finden sich also mehrere Arten unter dem Namen Sacch. apiculatus.“ Die in Aussicht gestellten ausführlichen Mitteilungen waren bei Abschluss der vorliegenden Untersuchungen im Herbst 1911 noch nicht erschienen.

Vor kurzem hat Klöcker[2]) eine Beschreibung von 17 Sacch. apiculatus-Formen, die zumeist aus Bodenproben der verschiedenen Gegenden des Auslandes, ausserdem von Rinde, Lichenen und Moosen auf Bäumen in der Umgebung von Kopenhagen isoliert worden waren, veröffentlicht. Dabei macht er ausführliche Mitteilungen über die sporenbildende Form, auf welche er früher hingewiesen hat. Er hat ihr den Namen Hanseniaspora valbyensis gegeben. Die Sporen dieser Art werden nach 4—5 Tagen bei 25° C. auf Würzegelatine gebildet. Sie sind im jugendlichen Alter kugelförmig, später werden sie halbkugelförmig und bekommen eine Leiste um die Grundfläche herum; diese hat einen Durchmesser von ca. 2 μ, die Sporen werden also mehr oder minder „hutförmig“, wie die Sporen der Willia-Arten. In der Regel finden sich zwei Sporen; sie liegen am häufigsten mit der Grundfläche gegeneinander und wachsen nach und nach zusammen. Selten sieht man nur eine Spore in einer Zelle. Vor Beginn der Keimung schwellen die Sporen an und die Leiste verschwindet. Die Keimung geht durch Sprossung vor sich (ohne vorhergehende Promycelbildung). Dieser Beschreibung zufolge ist die von Röhling beobachtete Form mit der von Klöcker beschriebenen nicht identisch. Ein weiterer Vergleich ist schwer durchzu-

[1]) Centralbl. Bakteriologie, II. Abt. 1910, Bd. 26, S. 513.

[2]) Centralbl. f. Bakteriologie II. Abt. 1912, 35, S. 375.

führen, da Röhling seine Kulturen morphologisch und physiologisch nur unzulänglich charakterisiert hat. Sein Interesse ist hauptsächlich praktischen Fragen zugewendet.

Klöcker gibt ferner noch an, dass das Sporenbildungsvermögen bei Aufbewahrung in 10proz. Saccharoselösung während 2 Jahren nicht verloren gegangen sei. Sporenbildung trat wieder auf, wenn die Zellen nach einmaligem Auffrischen in Würze auf Würzegelatine ausgesät wurden. Auch beim Eintrocknen der Sporen enthaltenden Vegetationen blieb das Sporenbildungsvermögen nach den vorliegenden Beobachtungen bis zu 3 Jahren erhalten.

Gefunden wurde die sporenbildende Form vor ca. 10 Jahren im Carlsberg-Laboratorium in einigen Bodenproben aus dem bei Valby liegenden sogenannten „Vesterfalled." Später untersuchte zahlreiche Bodenproben von der gleichen Lokalität enthielten in den meisten Fällen ebenfalls die sporenbildende Form. Durch Züchtung im Laboratorium ging aber das Sporenbildungsvermögen bald verloren.

Klöcker hat sich, insbesondere bei einer in den Obstgärten in Valby vorkommenden Form in zahlreichen Versuchen vergebens bemüht, die übrigen von ihm beschriebenen Formen zur Sporenbildung zu bringen. Er säte unter anderem, in der Voraussetzung, dass möglicherweise die Beschaffenheit der Erde Ursache der Sporenbildung sei, die nicht sporenbildende Form von den Obstgärten in Erde von Vesterfalled und umgekehrt. Bei niedriger Temperatur wurden die Zellen $^1/_2$ 1 Jahr belassen. Das Ergebnis war, dass die Art von Vesterfalled Sporenbildungsvermögen behielt, die Art von den Obstgärten aber keines erhielt.

Die Vorschläge von Klöcker hinsichtlich der Nomenklatur der sporenbildenden und der nicht sporenbildenden Apiculatus-Formen sollen erst am Schluss der vorliegenden Abhandlung in Verbindung mit der Frage über deren systematische Stellung diskutiert werden.

Den gleichen Misserfolg hinsichtlich des Sporenbil-

dungsvermögens bei Apiculatus-Formen hatte H. Zikes[1]); dieser berichtet über sehr umfassende Versuche, welche sich hauptsächlich mit der Sporulationsfähigkeit der Apiculatushefe beschäftigten. Er benützte dazu zwei Apiculatusstämme, von welchen der eine aus frischem Most, der zweite aus Bier stammte. In Hinsicht auf die Versuche, welche ich selbst ausgeführt habe, sei aus dem Bericht von Zikes folgendes mitgeteilt. Zikes hat andere Wege als bisher eingeschlagen, um die Sprosspilze mit zugespitzten Zellen zur Sporenbildung anzuregen. Er stellte Abkochungen verschiedener Erden, wie Garten-, Weinberg- und Walderde her und zwar von je 100 gr Erde mit 1000 ccm Wasser. Die Dekokte wurden nach der Filtration zur Anfertigung folgender Nährböden benutzt.

I. 100 gr Lösung enthielten 1 % Pepton, 5 % Glukose, 0,3 % Monokaliumphosphat, 0,2 % Magnesiumsulfat.

II. 100 gr Lösung enthielten 1 % Asparagin, sonst wie I.

III. 100 gr Lösung enthielten 0,3 % Monokaliumphosphat und 0,2 % Magnesiumsulfat.

In diesen Lösungen wurden die Pilze kultiviert und von hier aus in möglichst jugendlichem Zustand auf Gipsblöcke gebracht. Zu deren Befeuchtung dienten in einer Versuchsreihe steriles Wasser, in einer anderen die betreffende Nährlösung. In keiner der Kulturen, die gleich allen übrigen Versuchen bei 25 ° C gehalten wurden, kam es zur Bildung endogener Sporen. In Lösung I traten bei Verwendung von Weinbergerde in vereinzelten Zellen Granula fettartiger Natur von ziemlicher Grösse auf.

Die Erden kamen auch direkt als Nährböden zur Verwendung, jedoch auch in diesem Falle wurde nur ein negatives Resultat erhalten.

Ausserdem wurden auch Holz, Rinden und Abkochungen der Blätter von Eiche, Fichte und Buche angefertigt und Nährböden in gleicher Weise wie bei Benutzung der Abkochung der Erde hergestellt. Auf allen diesen Nährböden, aber auch auf dem Holze, der Rinde und den Blättern selbst entwickelten sich teils kräftigere,

[1]) Centralbl. Bakteriologie, II. Abt. 1911 30 S. 145.

teils spärlichere Vegetationen, die direkt untersucht und nach Übertragung auf Gipsblöcke Sporenbildung nicht erkennen liessen. Der Zellinhalt zeigte teils Granulierungen, teils homogenes oder mehr oder weniger vakuolisiertes Plasma. Auch hier wurden die grösseren Sporen vortäuschenden Granula weiter untersucht, aber nur wieder als Anhäufungen von Fett erkannt. Ferner wurden Lösungen von 5 % Glukose und 1 % Pepton in Most und Würze angefertigt. Nach 24 Stunden wurden die Kulturen ausgeschleudert und die Zellenmasse auf gelbe und rote Rüben, Kartoffeln, auf Gipsblöcke, Ton und Chamotteblöcke, auf Filtrierpapier, endlich auf Weizenagar und einfachen Wasseragar ausgesät. Aber auch auf diesen Nährböden konnte niemals Sporenbildung beobachtet werden. Weitere Versuche wurden mit einem Hefenwasser durchgeführt, das aus einer leicht sporenbildenden Weinhefe hergestellt worden war. Auch diese Nährböden wurden entweder für sich oder unter Zusatz von Glukose-Asparagin und Glukose-Pepton zur Aufzucht der Hefe benützt und diese, nachdem sie in denselben Nährlösungen einigemal aufgefrischt worden war, auf Kartoffeln, Gipsblöcke usw. gebracht. Das Ergebnis war immer negativ.

Ferner wurden die gleichen Lösungen zur Anlage von Tropfen- und Adhäsionskulturen verwendet. Auch hier entwickelten sich die Zellen teils mit ganz homogenem Protoplasma, teils war dieses von Granulation durchsetzt.

Endlich wurde auch der Nähragar von Gorodkowa[1]) geprüft, jedoch ohne Erfolg.

Zikes hat also, wie er ausführt, bei seinen Versuchen teils die natürlichen ökologischen Verhältnisse der Hefe nachgeahmt, teils jene in einer solchen Weise ange-

[1]) A. A. Gorodkowa. Über das Verfahren, rasch die Sporen von Hefepilzen zu gewinnen. Bull. du jardin imp. bot. de St. Petersbourg. 1908. 8. S. 165. Die Zusammensetzung des Agars ist folgende: 100 ccm Leitungswassar, 1 % Agar, 1 % Pepton, 1 % Fleischextrakt, ½ % Natriumchlorid und nur ¼ % Glukose.

stellt, dass die Hefe nach idealster Ernährung plötzlich auf Hungerkost gesetzt wurde. Gleichwohl ist er zu keinem positiven Ergebnis hinsichtlich der Sporulation gekommen. Zikes sagt: „Da alle Methoden, alle Züchtungsverfahren misslangen, muss man zu dem Schluss kommen, dass die beiden Apiculatusstämme asporogen sind und gewisse Apiculatushefen solange nicht zu den eigentlichen Saccharomyceten gerechnet werden dürfen, bis eine sichere universelle Methode gefunden wird, die das Gegenteil beweist."

Auch auf die Vorschläge von Zikes hinsichtlich der Nomenklatur der beiden Gruppen, der sporenbildenden und der nicht sporenbildenden, wird erst später zurückzukommen sein.

Die mit Einführung der Reinkultur und die durch diese bedingten bahnbrechenden Arbeiten von Emil Chr. Hansen in den Anschauungen über Hefe sich vollziehende Wandlung führte unter anderem auch zu der Vermutung, dass die von Reess aufgestellten Heferassen nicht einer einzigen Art zukommen, sondern dass jene Gruppen verwandter, also morphologisch und physiologisch einander nahestehender Arten umfassen; ausserdem kommen noch Rassenverschiedenheiten in Frage. Hansen hat diese Vermutung bestätigt gefunden und die verwandtschaftlichen Beziehungen der von ihm isolierten und studierten Hefenarten zunächst dadurch zum Ausdruck gebracht, dass er die einzelnen Arten einer Gruppe mit Nummern bezeichnete (z. B. Sacch. Pastorianus I—III; erst später wurde diese Nomenklatur durch eine besondere Speziesbezeichnung geändert (Sacch. Pastorianus, intermedius und validus). Nach neueren Untersuchungen von H. Marchand[1]) über die Konjugation der Sporen mancher Hefen bei der Keimung erscheint es allerdings zweifelhaft, ob alle drei Arten dem gleichen Verwandtschaftskreise angehören.

---

[1]) H. Marchand. Ueber die Konjugation der Sporen einiger Hefen. Compt. rend. des seances de la Société de Biologie. 1912, Bd. 72. S. 410.

Es würde von unserem eigentlichen Thema zu weit hinwegführen, wenn dargelegt werden sollte, in welcher Weise die Art- und Rassenfrage weiterhin bearbeitet und gelöst würde. Uns interessiert hier nur, dass sehr bald der Vermutung Raum gegeben wurde, dass auch unter den Artnamen Sacch. apiculatus sich verschiedene Rassen oder vielleicht sogar Arten verbergen.

Amthor[1]) sucht als erster darzutun, dass von dem Sacch. apiculatus eine Anzahl von Rassen, wie er sich ausdrückt, existieren. Der Weg, den er dabei einschlug, war der gleiche, wie bei der Beweisführung für die Existenz verschiedener Rassen von Sacch. cerevisiae und ellipsoideus auf Grund verschiedener chemischer Arbeit in gleich zusammengesetzter Nährlösung;[2]) Unterscheidungsmerkmale in morphologischer Hinsicht wurden für Sacch. apiculatus bei der Ähnlichkeit der Formen kaum gefunden. Amthor liess den gleichen sterilen Most durch zwei Reinkulturen von Apiculatus, von welchen der eine aus einem rheinhessischen weissen (Niedersaulheim), der andere aus einem württembergischen roten Most (Heilbronn) gewonnen war, unter den gleichen Bedingungen vergären.

In der chemisehen Zusammensetzung der zwei Weine machte sich ein beträchtlicher Unterschied bemerkbar, woraus Amthor den Schluss zog, dass von Sacch. apiculatus verschiedene Rassen existieren. Der Alkohol-, Zucker-, Glyzerin- und Stickstoffgehalt, sowie die flüchtigen Säuren zeigen bedeutende Abweichungen. Während die erste Reinkultur 2,58 Gew. Proz. Alkohol und 311 mg Glyzerin erzeugte, fanden sich bei der anderen 5,67 Gew. Proz. Alkohol und 353 mg Glyzerin in 100 ccm. Die Menge der flüchtigen Säure betrug bei der ersten Reinkultur 131 mg, bei der zweiten dagegen nur 107. Beide Kulturen hatten den Most entfärbt, jedoch war der Entfärbungsgrad beider Apiculatus-Kulturen wesentlich ver-

---

[1]) K. Amthor. Ueber den Sacch. apiculatus. Z. physiolog. Ghemie, 12, S. 558.

[2]) Amthor, „Studien über reine Hefen". Z. physiolog. Chemie. Bd. 12, pag. 64.

Müller-Thurgau[1]) hat den gleichen Weg beschritten. Er prüfte sieben verschiedene von ihm isolierte Rassen von Sacch. apiculatus in Traubensaft, sowie in Birnen- und Johannisbeersaft. Die Menge des gebildeten Alkohols schwankte im Traubensaft zwischen 2,5 und 3,8 Gew. Proz. Nach der Schnelligkeit der Gärung geordnet, ergab sich in allen drei Nährflüssigkeiten die nämliche Reihenfolge. Bei allen war der Gehalt des Gärproduktes an flüchtiger Säure ein hoher; bei Rasse 8 z. B. in Traubenwein 93 mg in 100 ccm, in Birnenwein 123 mg (als Essigsäure berechnet), während er z. B. bei der elliptischen Hefe Steinberg in den gleichen Flüssigkeiten 53 und 47 mg betrug.

R. Schander[2]) hat 24 Reinzuchten von Apiculatushefen einer vergleichenden Untersuchung unterworfen und zwar in morphologischer und physiologischer Beziehung, deren Ergebnisse leider nur im Auszuge vorliegen. Eine in Aussicht gestellte ausführliche Mitteilung ist unseres Wissens nicht erschienen.

Die untersuchten Apiculatushefen unterschieden sich in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften derart, dass auch bei ihnen zweifellos verschiedene, teilweise recht weit von einander stehende Rassen unterschieden werden müssen.

In morphologischer Beziehung gibt Schander an, dass im allgemeinen zwei Zellformen vorherrschten. Die einen waren kurz und dick und typisch zitronenförmig, die anderen dünn und liessen die Zitronenform weniger deutlich hervortreten. Ovale Zellen werden nicht erwähnt. Verschieden war auch die Grösse der Zellen.

Auf Mostgelatine wuchsen die Apiculatushefen ziemlich langsam, zarte, wenig scharf gezeichnete dunkle

[1]) 7. Jahresber. der Schweizerischen Versuchsanstalt in Wädenswil für 1896/97 S. 50; durch Lafar, Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 4 S. 33—34.

[2]) Ber. der königl. Lehranstalt f. Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh., f. d. Etatsjahr 1903 erstattet v. Prof. J. Wortmann, Berlin, P. Parey, 1904, S. 123.

Kolonien bildend, die meist von einem helleren Randsaum umgeben waren.

Die Strichkulturen zeigten wenig Unterschiede; mit Mühe liessen sich zwei Typen unterscheiden, von denen die eine glatt und glänzend, die andere matt, zart gezeichnet und mit einem feingenarbten Randsaum versehen war.

An den Riesenkolonien traten die beiden Typen deutlicher hervor. Bei Typus I sind jene tief eingesenkt. Um einen hervortretenden Kern lagern sich die Schichten, wenig, sehr zarte Zeichnung zeigend, ringförmig an. Sie besitzen eine glänzende Oberfläche und einen nur wenig eingebuchten Rand. Typus II erinnert mehr an die Riesenkolonien der echten Hefen; diese sind wenig eingesenkt, fast flach, aber nicht erhaben. Die Oberfläche ist matt und durch radiale Querleisten, meist fünf, in einzelne Felder zerlegt. Der Randsaum ist schwach genarbt.

In einigen Kulturen war an der Oberfläche des Mostes, besonders am Glase, eine geringe Hautbildung zu beobachten.

Über die mehr oder minder feste Lagerung des Trubs und dessen verschiedenes Aussehen, welche praktische Bedeutung haben, auch sehr gut zur Unterscheidung einzelner Kulturen führen, werden ebenfalls Beobachtungen mitgeteilt.

So verschieden wie die morphologischen Eigenschaften waren auch die physiologischen. Doch stimmen sie mit den von anderen Forschern beobachteten überein. Die geringste Menge des im Traubenmost gebildeten Alkohols betrug 1,44 gr in 100 ccm, die grösste 4,53 gr. Die Gärungsenergie war langsam und schleppend.

Der Entfärbungsgrad der verschiedenen Kulturen war verschieden; bei einigen wurde der verwendete Most sehr stark entfärbt.

Auch Schander machte die schon von anderer Seite hervorgehobene Beobachtung, dass sich während der

Gärung ein starker Geruch nach Essig- und Amylestern unangenehm bemerkbar macht.

Die Esterbildung und der stark hemmende Einfluss der Apiculatushefen auf die Vermehrung der Edelhefen der Wein- und Biergärung ist eine charakteristische Eigenschaft, welche die Apiculatushefen gegenüber anderen Gruppen von Sprosspilzen scharf kennzeichnet. Auf sie wird auch in den verschiedenen Arbeiten, welche sich mit Fragen von vorherrschend praktischem Interesse befassen und auf welche deshalb nicht weiter eingegangen werden soll, hingewiesen.

Auch die von verschiedener Seite hervorgehobene Bildung grösserer Mengen von flüchtigen Säuren charakterisiert die Gruppe der Apiculatushefen. Aus den hier referierten Arbeiten geht also unzweifelhaft hervor, dass es verschiedene Varietäten oder Rassen der Apiculatushefen gibt.

Die Frage der systematischen Stellung der zugespitzten Hefen, also die Feststellung des Verwandtschaftskreises ist seit Aufstellung der Art Sacch. apiculatus wiederholt erörtert worden.

Durch diese Bezeichnung war jenen, obgleich Sporenbildung noch nicht nachgewiesen war, wenigstens vorläufig ein Platz angewiesen worden. Nachdem durch die Entdeckung von Sporen in Apiculatushefen durch Röhling und von Klöcker, die schon von Reess ausgesprochene Hoffnung, dass es einst doch noch gelingen werde, die für die Charakterisierung und Abgrenzung der Sacch. wichtige Fortpflanzungsart bei den Apiculatushefen kennen zu lernen, erfüllt war, schien die Frage nach der systematischen Stellung kaum noch eine Bedeutung zu haben. Die Beobachtungen von Röhling und Klöcker liessen aber den Schluss zu, dass sporenbildende, zugespitzte Hefen nur selten vorkommen, deren Mehrzahl dagegen asporogen ist. Die inzwischen von Zickes und Klöcker mitgeteilten Versuchsergebnisse verstärken jene Schlussfolgerung. Damit würde aber die Frage nach der systematischen Stellung wieder aufgerollt.

H. Will[1]) stellt die asporogenen Apiculatusformen auf Grund gelegentlicher Untersuchungen zu den Torulaceen und zwar zu der Untergruppe mit ausschliesslich gedrungeneren Zellformen (kugelförmig, ellipsoidisch mit oder ohne Zuspitzung).

Der Weg, der betreten wurde, um den Beweis für die Verschiedenheit der Hefenarten und Rassen zu liefern, führte neben dem Studium der morphologischen Erscheinungen, zur Erforschung der chemischen Arbeitsleistung, welche in verschiedenen, aus natürlichen zuckerhaltigen Fruchtsäften oder künstlichen mit bestimmten Zuckern versetzten Nährlösungen erzeugten Alkoholmengen, ferner in der Art und der Menge der erzeugten fixen und flüchtigen Säuren, überhaupt in den verschiedenen Gärungsprodukten zutage tritt.

Dieser Weg hat seinem Zweck vollkommen Genüge geleistet. Wenn aber der Versuch gemacht werden soll, soweit es eben möglich ist, ein System der Sprosspilze ohne Sporenbildung aufzustellen, insbesondere die Stellung der Apiculatushefen in diesem System zu sichern, so sind die auf jenem Wege erhaltenen Merkmale nur teilweise verwertbar.

Um dieses höhere Ziel zu erreichen, müssen vor allem vergleichende Untersuchungen an allen Gruppen von Sprosspilzen ohne Sporenbildung nach den gleichen Richtpunkten durchgeführt werden, es muss das Verhalten gegenüber den gleichen bestimmten Faktoren festgestellt werden. Bei der Gruppe der Mycodermen und der Pseudomonilien ist dies bereits geschehen.

Nachdem durch Will und seine Schüler an einer grösseren Anzahl von Torulaceen durchgeführte vergleichende Studien soweit gefördert worden waren, dass in naheliegender Zeit ein gewisser Abschluss erwartet werden konnte und durch jene eine Übersicht über die morphologischen und physiologischen Merkmale der einzelnen

---

[1]) „Anleitung zur biologischen Untersuchung und Begutachtung usw.“ München, R. Oldenburg, 1909, S. 69.

Arten und der ganzen Gruppe gewonnen werden konnte, veranlasste mich Herr Prof. Will vergleichende Studien an vier Apiculatuskulturen durchzuführen und zwar nach den gleichen Richtpunkten, welche für die Untersuchung der Torulaceen, überhaupt für die bis jetzt untersuchten Sprosspilze ohne Sporenbildung massgebend waren. Durch jene Studien sollte Material beschafft werden, auf Grund dessen eventuell eine weitere Stütze für die Auffassung gewonnen werden konnte, dass die asporogenen Apiculatusformen zu den Torulaceen und zwar als besondere Gruppe gestellt werden können. Gleichzeitig konnte aber auch ein Urteil darüber gewonnen werden, ob und welche Unterschiede zwischen den einzelnen benützten Apiculatusstämmen bestehen und ob diese gross genug sind, um die einzelnen Stämme als Arten zu umgrenzen und scharf von einander zu trennen, oder ob nur Varietäten und Rassenverschiedenheiten in Frage stehen.

Diese Apiculatus-Kulturen, bezeichnet mit den Nummern 1, 3, 4 und 7 wurden mir aus der Sammlung der wissenschaftlichen Station für Brauerei überlassen. Sie waren nach einigen vorausgegangenen vergleichenden Untersuchungen aus einer grösseren Anzahl von Kulturen von Herrn Prof. Will ausgewählt worden. Die Orte, aus welchen sie stammen, liegen in weit voneinander entfernten Gegenden.

Nr. 1 und 3 waren aus Jungbier (fässiges Bier), Nr. 4 und 7 von zerdrückten und in Gärung übergegangenen Weintrauben isoliert worden.

Versuchsanordnung.

Die Fragestellung und dementsprechend die Versuchsanordnung war folgende:

A) Allgemeine u. spezielle Morphologie.

Festgestellt wurde die Form und die Größe, ferner das Aussehen, sowie die Beschaffenheit des Inhaltes der Zellen. Ausserdem richtete sich das Augenmerk auf die Wachstumserscheinungen in Einzelkulturen in flüssigen und auf festen Nährböden. Ferner wurden die Erscheinungen in grösseren Mengen verschiedener Nährlösungen studiert.

Dieser Versuch hatte den Zweck, eine etwa auftretende Hautbildung auf den Kulturen, gleichzeitig einsetzende Entfärbungen u. s. w. zu beobachten. Eine besondere Aufmerksamkeit wurde dem Wachstum in Riesenkolonien geschenkt; Beachtung fanden ferner die Wachstumserscheinungen in Stichkultur und bei gleichmässiger Verteilung der Zellen im Nährboden. Eingehende Versuche bezweckten zu prüfen, ob bei Einhaltung der bis jetzt angegebenen Verfahren Sporenbildung auftritt.

B) Physiologie.

Die ausgeführten Versuche gliedern sich in folgende Abschnitte:

1. Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten.

Geprüfte Zucker: Dextrose, Lävulose, Galactose, Maltose, Saccharose, Milchzucker und Raffinose.

Die Gärversuche wurden sowohl nach der Kleingärmethode von Lindner, als auch in grösseren Mengen

Nährflüssigkeit durchgeführt. Zweck des Versuches war, festzustellen, welche von den Zuckern durch Sacch. apiculatus vergoren oder assimiliert werden und in welchem Grade Vergärung oder Assimilation stattfindet.

2. Verhalten gegen Aethylalkohol.

Die Versuchsreihe bezweckte, festzustellen, welche Mengen Alkohol die Entwicklung der untersuchten Apiculatusformen hemmen, welche Mengen sie töten und ob und in welchen Mengen Alkohol assimiliert wird.

3. Verhalten gegen organische Säuren.

Geprüfte Säuren: Essig-, Wein-, Milch-, Zitronen-, Aepfel- und Bernsteinsäure. Bei diesem Versuche handelt es sich darum, festzustellen, ob die Säuren von den Apiculatusformen assimiliert werden, welche Säuremenge die Vermehrung der Apiculatusformen zum Stillstand bringt und welche Menge Abtötung der Zellen unter den gegebenen Bedingungen herbeiführt.

4. Stickstoffquellen für die Vermehrung.

Verglichen wurden als Stickstoffquellen Pepton, Asparagin und Ammoniumsulfat. Der Versuch sollte Aufschluss geben, welche von den Stickstoffquellen für die Vermehrung am besten geeignet ist.

5. Grenztemperaturen für die Vermehrung.

Durch zahlreiche Untersuchungen an den Sprosspilzen aller Gruppen ist festgestellt, daß die Grenztemperaturen für die vegetative Vermehrung ein brauchbares unterscheidendes Merkmal für die Arten abgeben. Es sollte die Maximaltemperatur und die Minimaltemperatur, bei welcher sich die Apiculatushefen nicht mehr vermehren, festgestellt werden.

Folgende Nährböden fanden bei den Versuchen Anwendung:

1. Nährflüssigkeiten.

Ungehopfte Würze, ungehopfte Würze mit 3% Dextrose, ungehopfte Würze mit 3% Saccharose, gehopfte Würze, gehopfte Würze mit 3% Dextrose, gehopfte Würze mit 3% Saccharose, gehopfte Würze mit 1% Pepton und 3% Dextrose, Hefenwasser mit 3% Dextrose, Hefenwasser mit 3% Saccharose, Hefenwasser mit 2% Pepton, Hefenwasser mit 2% Pepton und 3% Dextrose, Hefenwasser mit 2% Pepton und 3% Saccharose. Hayducks Nährlösung von folgender Zusammensetzung: 25 gr Monokaliumphosphat, 8,5 gr Magnesiumsulfat, 5 gr Saccharose, 20 gr Asparagin in 1 Liter Wasser gelöst, Bier, Most, Kartoffelwasser, Gelbrübenwasser, Weissrübenwasser, Weisskrautwasser, Vollmilch, Magermilch, Hefenwasser mit 6% Zucker (Dextrose, Lävulose, Galactose, Maltose, Saccharose, Milchzucker und Raffinose), Hefenwasser mit 5% Maltose, Peptonlösung von folgender Zusammensetzung: 0,5 gr $CaHPO_4$, 4,55 gr KH_2PO_4, 2,1 gr $MgSO_4$, 20,0 gr Pepton Witte, 50 gr Maltose auf 1 Liter Wasser, Hansen-Lösung von folgender Zusammensetzung: 88,5 gr dest. Wasser, 0,2 gr $MgSO_4$, 0,3 gr KH_2PO_4, 1 gr Pepton Witte, 10 gr Dextrose, Hansenlösung mit 1 gr beziehungsweise 2 gr Pepton Witte; in dieser Lösung wurde das Pepton durch Asparagin und Ammoniumsulfat ersetzt. —

2. Feste Nährböden.

10%ige Würzegelatine ungehopft, 10%ige Würzegelatine ungehopft mit 3% Dextrose, 10%ige Würzegelatine ungehopft mit 3% Saccharose, 10%ige Würzegelatine gehopft, 10%ige Würzegelatine gehopft mit 3% Dextrose, 10%ige Würzegelatine gehopft mit 3% Saccharose, 10%ige Kartoffelwassergelatine, Gelbrübenwassergelatine, Weissrübenwassergelatine, Weisskrautwassergelatine, Mostgelatine, Hefenwassergelatine mit 3% Dextrose, Hefenwassergelatine mit 3% Saccharose.

Vor Beginn und am Schlusse jedes Versuches erfolgte durch mikroskopische Untersuchung eine Prüfung der

Reinheit der Kulturen. Alle Versuche wurden doppelt angestellt.

A) Allgemeine und spezielle Morphologie der vier Apiculatusformen.

Von den mir zur Verfügung gestellten 4 Apiculatusformen stellte ich zunächst nochmals Reinkulturen her.

Von den in gehopfter Würze von 11,5% B zweimal bei 25° aufgefrischten jungen Kulturen wurden in gehopfter Würze Einzellkulturen nach dem Tröpfchenverfahren angefertigt und bei Zimmertemperatur (18°) stehen gelassen. Trotz wiederholter Versuche gelang es jedoch nicht, die in den Würzetröpfchen gekennzeichneten Zellen zur Sprossung zu bringen. Ich verwendete deswegen für die Einzellkulturen gehopfte Würze mit einem Zusatz von 3% Dextrose und konnte dabei beobachten, dass No. 1 am langsamsten wuchs, während die Kulturen von No. 3, 4 und 7 sich rasch und gleichmässig vermehrten. Nachdem die gekennzeichneten Zellen in den Tröpfchen sich gut vermehrt hatten, wurden die deutlich sichtbaren Kolonien in Freudenreichkölbchen, die mit Würze mit einem Zusatz von 3% Dextrose gefüllt waren, abgeimpft und von hier aus nach 3 Tagen in kleine Pasteurkolben übertragen. Nach den bei der Einzellkultur gemachten Erfahrungen diente in der Folge zum Auffrischen der Kulturen als Nährboden gehopfte Würze mit einem Zusatz von 3% Dextrose.

Allgemeine und spezielle Morphologie der Zelle.

Zitronenförmige Zellen finden sich unter allen Umständen in den Kulturen, vorherrschend sind sie in den Kulturen, wenn die Ernährungsbedingungen sehr günstig sind. Die Form der typischen zitronenförmigen Zellen variiert innerhalb gewisser Grenzen, indem die Zuspitzung mehr oder weniger deutlich hervortritt, ausserdem die Zelle bald schlanker, bald mehr ausgebaucht erscheint. Aber auch die übrigen möglichen Zellformen, z. B. eiförmig, spitzeiförmig, oval und kugelförmig treten in allen Fällen und meist in grösserer Zahl auf. Dagegen sind in

jüngeren Kulturen langgestreckte, wurstförmige Zellen mit noch erkennbarer Zuspitzung an den Enden, wie sie schon von Reess und Schander gekennzeichnet wurden, selten vorhanden. Riesenzellen sind ziemlich selten; auf ihr Vorkommen soll erst bei den Versuchen, in welchen sie beobachtet wurden, hingewiesen werden. Bemerkt sei hier nur, dass in keiner der früher mitgeteilten Beobachtungen Riesenzellen erwähnt werden.

Die Form der Zellen unterliegt also, wie bei den übrigen Sprosspilzen, den mannigfachsten Variationen. Das Auftreten der verschiedenen Zellformen steht jedenfalls, wie sich aus den späteren Mitteilungen über die Zellformen, welche in den Riesenkolonien auf verschiedenen Substraten vorkommen, ergibt, teilweise mit der Ernährung in Zusammenhang. Auch die Temperatur dürfte Einfluss haben. Die jüngst von Klöcker[1]) veröffentlichen Beobachtungen bestätigen die von uns in dieser Hinsicht gemachten. Beachtenswert ist, dass bei den Apiculatusformen in gleicher Weise, wie bei den Torulaceen überhaupt Riesenzellen entstehen. Diese Zellen enthalten meist eine Vakuole, die so gross ist, dass sie fast den ganzen Binnenraum der Zelle einnimmt. Bei ganz jungen Kulturen ist nur in wenigen Fällen eine Vakuole in den Zellen zu beobachten; die meisten einen Tag alten Zellen enthalten Vakuolen und nach zwei Tagen ist in allen Zellen diese Erscheinung wahrzunehmen. Ältere Zellen enthalten häufig zwei oder drei Vakuolen, seltener vier. Eine sehr charakteristische Erscheinung sind die ausgebauchten Zellen mit einer grossen rundlichen oder ovalen Vakuole.

Das regelmässige Vorkommen einer beschränkten Anzahl von stark lichtbrechenden Körperchen (Granula) im Plasma kräftiger, noch nicht der Autolyse verfallenen Zellen ist für die Apiculatushefen sehr charakteristisch. Sie gleichen in dieser Richtung den Torulaceen. Ovale und kugelförmige Zellen der Apiculatushefen mit einem

[1]) a. a. O.

grösseren Granulum können mit den Zellen mancher Torula-Arten verwechselt werden. Bei gut ernährten Zellen finden sich meist zwei stark lichtbrechende Körperchen, die bei den zitronenförmigen Zellen in den beiden Zuspitzungen der Zelle in das Plasma eingelagert sind; häufig ist auch nur ein Granulum zu beobachten; selten fehlt ein solches überhaupt. In kugelförmigen Zellen ist die Lagerung der Granula keine regelmässige, in der Weise, dass sie etwa immer einander gegenüber gelagert wären. Sie liegen häufig auch nahe beieinander. In den Zellen etwas älterer Kulturen sind immer mehr Granula zu beobachten als bei jüngeren. Ich zählte in diesem Falle bis zu fünf. In den Riesenkolonien, die acht Wochen bei einer Temperatur von 0°C — 4°C gestanden hatten, konnte ich in vielen Riesenzellen bis zu acht Granula zählen. Hier sind aber, wie auch in anderen sehr alten, der Autolyse bereits verfallenen Zellen, jedenfalls mindestens zwei Arten zu unterscheiden.

Zunächst die schon in den jüngeren Zellen regelmässig in beschränkter Zahl vorhandenen, welche wahrscheinlich in der lebenden Zelle eine bestimmte Funktion ausüben und eine zweite Gruppe, welche auf Zerfallsprodukte bei der Autolyse der Zellen, also auf Alterserscheinungen zurückzuführen sind. Es wurde jedesmal mit Osmiumsäure geprüft, wobei sich die Granula stets dunkelbraun bis schwarz färbten.

Der homogene Zellinhalt junger kräftiger Zellen ist im Vergleich zum Plasma der Saccharomyceten schwach lichtbrechend; bei älteren Kulturen ist der Inhalt schaumig oder gekörnt. Glykogen wurde in keiner der zahlreich durchgesehenen Kulturen verschiedenen Alters gefunden. Es besteht also völlige Übereinstimmung mit den Beobachtungen von W. Henneberg.[1])

Am Ende der Gärung, sowohl in Würze als auch in Most, enstehen längliche, spindelförmige und kurzfaden-

[1]) Jahrbuch der Versuchs- u. Lehranst. für Brauerei in Berlin 1911, 14, S. 570.

förmige Zellen, welche stark gekörnt erscheinen oder viele Granula enthalten.

Die Grösse der Zellen variiert zwischen 2 μ Länge und solche von 8—9 μ. Durchschnittlich ist die Länge 6—7 μ, die Breite 2 –3 μ. Einzelne Zellen erreichen eine Länge von 18 μ und eine Breite von 6 μ. Die Grössenverhältnisse für die typischen Zellen stimmen im allgemeinen mit denen von Reess[1]) und Hansen[2]) gemachten Angaben überein.

Ersterer gibt die Länge der Zellen mit 6—8 μ und die Breite mit 2—3 μ an, letzterer sagt, dass sie 4.5—9 μ, am häufigsten 7 μ lang sind. Mach und Portele[3]) fanden Zellen von 1.6– 2.2 μ Breite und doppelter Länge, einzelne von 8—17 μ Länge und nur 1 μ Breite. Lindner[4]) fand bei einer Form einen Querdurchmesser von 2—3 μ und einen Längendurchmesser von 4—6 μ, bei einer anderen bzw. 3—4 μ und 6—8 μ. Rommel[5]) gibt für die Länge 8 μ und Rose[6]) für die Breite 3.5—4.5 μ, für die Länge 7—9 μ an.

Spezifische morphologische Eigentümlichkeiten oder Grössenverhältnisse bei den vorherrschenden Zellen waren bei den einzelnen von uns untersuchten Kulturen nicht zu beobachten. Es gilt also auch bei den Apiculatushefen das Gesetz: Die Form und Grösse der Zellen bietet kein durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal.

Schon Reess hat ausser den typischen Zellen bei den Apiculatushefen länger gestreckte beobachtet. Er gibt folgendes an:[7]) Zuweilen, besonders am Ende der Gärung,

[1]) a. a. O., S. 26.

[2]) Compt. rend. Carlsberg Laborat., Bd. 1, S. 160.

[3]) Ueber die Gärung von Trauben- und Apfelmost mit verschiedenen reingezüchteten Hefearten. Die landw. Versuchsstationen, 1892, 41, S. 233.

[4]) Sur quelque levûres du vignoble genèvois Arch. de Science phys. et nat. (S. 4) T 9, April 1900.

[5]) Ueber einige Fruchthefen von Werder. Wochenschr. f. Brauerei, 1902, 19, S. 176.

[6]) Beiträge zur Kenntnis der Organismen im Eichenschleimfluss. Wochenschr. f. Brauerei, 1910, 27, S. 525.

[7]) a. a. O. S. 27.

werden die Zellen des Sacch. apiculatus länglich, spindelförmig und kurzfadenförmig. An den zwei Spitzchen und der grossen Vacuole bleiben sie aber auch dann kenntlich, wenn die Spitzchen selbst in lange nadelförmige Fortsätze sich ausziehen. Reess bildet auf Tafel 3, Fig. 9—12 die charakteristischen Zellformen aus einer Vegetation in Traubenmost, zu Beginn der Hauptgärung, dann zu Ende der Hauptgärung des Weines, dann verschiedene Vegetationsformen auf Möhrenscheiben und ruhende Formen aus der Nachgärungsweinhefe ab. In allen Fällen, besonders bei den ruhenden Formen, finden sich sehr langgestreckte Zellen, die grosse Ähnlichkeit mit den Zellen des Saccharomyces apiculatus var. parasiticus aufweisen, welchen P. Lindner[1]) in der Schildlaus entdeckt hat. Ausserdem weist Reess[2]) noch auf die nach Grösse, Form und Zusammenhang oft sehr eigentümlichen Sprossung (monströse Formen) auf Substraten hin, welche bei anderen „Saccharomyceten“ Sporenbildung befördern, Über andere in den Kulturen auftretende Zellformen, als die genannten, äussert sich Reess nicht; solche waren offenbar, abgesehen von den ovalen, welche aber bald in die Zitronenform übergingen, in seinen Kulturen nicht vorhanden. Die Mannigfaltigkeit der Zellformen, darunter auch monströse, welche Hansen beobachtet hat, geht aus der seiner oben zitierten Abhandlung beigegebenen Zeichnung hervor.

Schander[3]) hat ausser den typischen Zellen langgestreckte, dünne, welche die Zitronenform weniger deutlich hervortreten lassen, abgebildet. Im übrigen äussert er sich auch dahin, dass die Gestalt der von ihm untersuchten Apiculatushefen sehr verschiedenartig sei; im allgemeinen herrschten zwei Formen vor: kurze und dicke von typischer Zitronenform und die oben erwähnten langgestreckten.

---

[1]) Centralbl. f. Bakteriol. II. Abt. 1895, 1, 782 und Wochenschrift f. Brauerei, 1907. 24, 21.

[2]) a. a. O. S. 27.

[3]) a. a. O. S. 124.

Wachstumerscheinungen in flüssigen und festen Nährböden.

1. Flüssige Nährböden.

a) Sprossung, Form und Inhalt der Zellen in Einzellkulturen.

Reess[1]) beschreibt den Vorgang der Sprossung in folgender Weise: Die Tochterzellen entstehen als erst knopfförmige, dann kugelig schwellende Ausstülpungen nur an den beiden Polen. Sie wachsen erst fast vollständig zur Grösse der Mutterzelle heran und werden dann rechtwinklig umgestülpt, so dass ihre Längsachse auf diejenige der Mutterzelle senkrecht zu stehen kommt. Hernach sprosst entweder die Tochterzelle noch im Verbande mit der Mutterzelle ein- oder zweimal weiter, oder sie löst sich sogleich ab und erhält erst nach der Ablösung ihre beiden Spitzchen. Reichzellige Sprossverbände werden nie gebildet. Die elliptischen isolierten Tochterzellen werden alsbald zitronenförmig; am Ende der Gärung werden die Zellen länglich, spindelförmig und kurzfadenförmig. Engel[2]) bestätigte im wesentlichen die Angaben von Reess. Em. Chr. Hansen[3]) hat an Reinkulturen, welche Reess noch mangelten, sehr eingehende Beobachtungen über die Sprossung, insbesondere über die Form der Mutterzellen und deren Umwandlung, sowie die Form der aus Mutterzellen verschiedener Form hervorgehenden Tochterzellen angestellt. Den Angaben von Reess zufolge sind die Tochterzellen zuerst oval und

---

[1]) a. a. O. pag. 27.

[2]) Les ferments alcooliques Thèse. Paris 1872, pag. 53.

[3]) Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature. Compt. rend. Carlsberg, Lab. 1, p. 159.

nehmen später die typische Zitronenform an, wenn sie sich von der Mutterzelle abgetrennt haben.

Hansen weist an der Hand von Abbildungen, in welchen verschiedene typische Fälle von Sprossung dargestellt sind, nach, dass die abgetrennten Tochterzellen nicht immer oval sind, sondern zuweilen Zitronenform besitzen. Ovale Zellen sprossen erst wieder mit solchen aus, bevor sie selbst Zitronenform annehmen. Die Tochterzelle kann auch früher die Zitronenform annehmen als die Mutterzelle. Manchmal erzeugt eine ovale Mutterzelle zwei oder mehrere Sprosszellen, bevor sie die Zitronenform annimmt; zitronenförmige Zellen erzeugen sowohl zitronenförmige als auch ovale Tochterzellen.

Es entsteht also nicht nur eine Form von Sprosszellen, die ovale, wie dies Reess und Engel angibt, sondern es werden regelmässig zwei Zellformen, die ovale und die zitronenförmige, bei der Sprossung erzeugt. Die Entwicklung der ovalen Zellen ist nach den Untersuchungen von Hansen durch das Gesetz beherrscht, dass jene, bevor sie die typische Form annehmen, zuerst eine oder mehrere Tochterzellen erzeugen. Nicht selten geht die typische Zellform sehr rasch verloren. Die Form der Zellen ist jedenfalls teilweise durch Ernährungsverhältnisse während der Sprossung bedingt. Solange die Ernährungsverhältnisse günstig sind, entstehen mehr zitronenförmige Zellen; sind jene ungünstig geworden, so werden mehr ovale gebildet. Unter günstigen Ernährungsbedingungen und wenn die Sprossung lebhaft vor sich geht, entstehen häufig Sprossverbände von vier Zellen, welche kurze Zeit bestehen bleiben.

R. Meissner[1]) kommt auf Grund seiner fortlaufenden Beobachtungen einzelner Zellen während der Sprossung zu dem Schluss, dass die zugespitzte Form des Apiculatus die Sprossform einer ovalen Zellform ist; die an

[1]) „Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung und Reinzüchtung der häufigsten in Most und Wein vorkommenden Pilze.“ Mit 61 Fig. Stuttgart. Eugen Ulmer, 1901, S. 40.

den Polen der Zelle vorhandenen Spitzen sind die Anfänge der Sprossung.

Nach der Darstellung Meissners vollzieht sich der Vorgang der Sprossung in folgender Weise: Die Mutterzelle schwillt an einem Ende kugelig an, die Kugel nimmt später ovale Gestalt an. Ist die Tochterzelle bis zu einer gewissen Grösse herangewachsen, so stülpt sich das andere entgegengesetzte Ende der Mutterzelle kugelig aus. Nach einer gewissen Zeit knickt, und war in wenigen Sekunden, der Spross rechtwinkelig zur Längsachse der Mutterzelle um und sprosst am vorderen Ende weiter. Das Umknicken der Tochtersprosse braucht aber nicht immer sofort zu erfolgen, wie die weitere Entwicklungsgeschichte lehrt. Früher oder später kommt es aber zu der bestimmten, angegebenen Lagerung der Tochtersprosse. Das Sprossen von Tochter- und Mutterzelle findet an dem einen und darauf an dem anderen Ende ganz regelmässig statt, weshalb es zur Bildung eines eigentlichen Sprossverbandes bei Apiculatus nicht kommen kann. (Es findet also eine Sprossung in Reihen und nicht mit Verzweigung statt.) Betrachtet man die Zellen, so sieht man, dass ein Teil davon eine ovale Gestalt besitzt und erst, wenn die Zellen sich anschicken zu sprossen, so spitzen sie sich zunächst an dem einen und später an dem anderen Ende zu. Meissner kommt also zu der gleichen Anschauung, welche schon von Reess und auch von Engel ausgesprochen, später aber von Hansen widerlegt worden war. Auch Müller-Thurgau kann der Anschauung von Meissner nicht zustimmen. Wenn die an den Polen der Zellen vorhandenen Spitzen die Anfänge der Sprossung sind, so müsste man annehmen, dass die Mehrzahl der Zellen gerade im Beginn des Sprossens das Wachstum einstellt.

Zur Beobachtung des Verlaufes der Sprossung unter dem Mikroskop wurden nach dem Verfahren von P. Lind-

---

[1]) Lafar. „Handbuch der technischen Mykologie“ Band 4, S. 317.

ner Tröpfchenkulturen angelegt. Als Nährboden diente 10 % gehopfte Würze mit einem Zusatz von 3% Dextrose.

Die Sprossung verläuft bei unseren vier Kulturen in derselben Weise, wie sie Hansen beschreibt. Nach den Beobachtungen an den von mir untersuchten Apiculatushefen ist die typische Zellform die zitronenförmige. Es kommen aber auch sehr häufig ovale Zellen vor. Eine ovale Zelle spitzt sich zu Beginn der Sprossung nach kurzer Zeit zu, so dass sie die typische Zitronenform erhält. Beim Fortschreiten der Sprossung tritt allmählich an Stelle eines der zugespitzten Enden eine rundliche Anschwellung, eine junge Tochterzelle, die immer grösser wird. Hat die Tochterzelle ungefähr ein Drittel der Grösse der Mutterzelle erreicht, so wird bei scharfer Beobachtung zwischen Mutter- und Tochterzelle eine Querwand sichtbar. Die Tochterzelle, die mit breiter Basis auf der Mutterzelle aufsitzt, wächst weiter, wobei sie sich nach der Berührungsstelle von Mutter- und Tochterzelle hin immer mehr verjüngt. Hat die Tochterzelle eine bestimmte Grösse (ungefähr die Hälfte der Mutterzelle) erreicht, so sprosst sowohl Mutter- als auch Tochterzelle an den beiden entgegengesetzten Enden weiter. Sobald nun die neuen Tochterzellen eine bestimmte Grösse erreicht haben, so knickt die erste Tochterzelle innerhalb weniger Sekunden um und steht fast in einem rechten Winkel zur Mutterzelle. Nach wenigen Minuten aber kann man beobachten, wie sich die Zellen, die aufeinander mit breiter Basis aufsassen, zuspitzen und allmählich in abgerundete Ausstülpungen übergehen. Die Tochterzelle ist also unter Spaltung der Querwand von der Mutterzelle getrennt worden. Den Anstoss hierzu hat anscheinend ein neuer aus der Mutterzelle hervortreibender Spross gegeben. Aber auch die Tochterzelle sprosst an der Stelle, an der sie mit der Mutterzelle im Zusammenhang stand, nach kurzer Zeit aus.

Auch bei zugespitzten Zellen wurden Beobachtungen über Sprossung gemacht und es zeigten sich die gleichen Erscheinungen wie bei den ovalen Zellen. Es treten also

hier ganz ähnliche Verhältnisse auf, wie bei Torula sanguinea Schimon.[1])

Bei allen Beobachtungen über Sprossung entstanden niemals grössere Sprossverbände als solche mit vier Zellen und zwar nur Verbände in Reihen, also ohne seitliche Verzweigung, worauf die Umknickung eintrat. In dieser Beziehung besteht zwischen den Angaben verschiedener Beobachter Übereinstimmung. Wenn die Sprossung so weit vorgeschritten ist, dass ungefähr 12 bis 15 Zellen im Tropfen vorhanden sind, lässt sich der Sprossvorgang nicht mehr weiter verfolgen. Nach vier Tagen wurden folgende Beobachtungen gemacht:

In den vielen angelegten Tröpfchen war bei No. 1 in mehr als der Hälfte Vegetation zu beobachten.

Die einzelnen entstandenen Kolonien hatten sich gleichmässig über die Fläche verteilt. Ihre Umgrenzungslinie war, abgesehen von grossen Zwischenräumen zwischen den einzelnen Zellen, sehr regelmässig. Auch im Innern der Kolonien lagen die einzelnen Zellen ziemlich weit auseinander, wie bei Organismen, deren Zellen in Schleim eingebettet sind. Am meisten zeigten die Zellen Zitronenform; ovale Zellen waren entschieden in der Minderzahl. Auch einige Riesenzellen mit Zitronenform hoben sich zwischen den Zellen normaler Grösse ab. Die Endglieder der kleinen Sprossverbände (bis vier Zellen) waren rundlich bis oval. Zuspitzung war bei jenen nicht zu beobachten. In den meisten Fällen enthielten die Zellen sehr grosse, fast den ganzen Binnenraum ausfüllende Vakuolen und meist nur ein, seltener zwei Granula; oder diese fehlten überhaupt. In der Mitte der Kolonien waren die Zellen meist zitronenförmig, an der Peripherie meist oval. Es kehren also die gleichen Verhältnisse wie bei den Sprossverbänden wieder. Da die an der Peripherie der Kolonien liegenden ovalen Zellen offenbar den letzten Generationen angehörten, die entstanden waren, nachdem

[1]) Otto Schimon, „Beiträge zur Kenntnis rot gefärbter, niederer Pilze.“ Diss. München. 1911, S. 55.

der Nährboden durch die vorausgehenden Generationen von Zellen mehr oder weniger erschöpft war, so hat die Anschauung sehr viel für sich, dass die ovalen Zellen nicht völlig ausgewachsen sind, und nur ein Zwischenstadium der zitronenförmigen Zellen darstellen. Die Zellform ist also wenigstens z. T. vom Nährboden abhängig.

No. 3. Nach dem Lupenbild sind die Kolonien diffus. In den meisten Tröpfchen haben sich die Zellen sehr gut vermehrt, die Kolonien sind gross und meist weit ausgebreitet. Zwischen den einzelnen Zellen befinden sich, wie besonders deutlich an dem Rande der Kolonien ersichtlich, verhältnismässig grosse Zwischenräume. Das Bild, welches die Kolonien darbieten, ist wieder das gleiche, wie bei Organismen, deren Zellen in Schleim eingebettet sind. Dem entspricht auch das Lichtbrechungsvermögen der ganzen Kolonien. In den älteren Kolonien, in welchen die Zellen sich nicht mehr vermehren, sind diese, soweit ersichtlich, nahezu alle isoliert. In anderen Kolonien, welche noch nicht ausgewachsen sind, befinden sich noch grössere Sprossverbände (bis zu vier Zellen) in Reihen, wie früher beobachtet. Die Form der Zellen ist, soweit sich bei schwacher Vergrösserung (250 : 1) erkennen lässt, vorherrschend zitronenförmig, jedoch finden sich auch viele kleine ovale. Die Zellgrösse ist ziemlich gleichmässig; Riesenzellen sind nicht vorhanden, nur sehr vereinzelt längere Zellen; der Zellinhalt ist körnig. Nach dem Abheben des Deckelglases wurde sowohl bei Nr. 1 als auch bei No. 3 probiert, ob die Kolonien schleimig sind. Es wurde bei dem Probieren mit der Nadel kein Fadenziehen beobachtet. Gleichwohl ist Schleimbildung nicht ausgeschlossen. Es sei hier an die Angabe von Schander[1]) erinnert, nach welchen die Trubs (der Bodensatz) der von ihm untersuchten Apiculatushefen meist schleimig waren.

Die Form und Verteilung der Zellen in den Kolonien stimmt mit der bei No. 1 beobachteten überein. In der

[1]) a. a. O.

Mitte finden sich also wieder zitronenförmige, nach der Peripherie zu aber ovale Zellen.

No. 4. Die Kolonien in den Tröpfchen bieten gegenüber denjenigen von No. 3 ein wesentlich anderes Bild. Vor allem sind sie kompakter, während bei No. 3 die Zellen selbst im Kern der Kolonien Zwischenräume zwischen sich hatten, erscheinen hier die Zellen sehr dicht aneinander gelagert. Um diesen dichteren Kern liegen, allerdings in verschiedener Ausdehnung, kleine und soweit sich erkennen lässt, meist ovale Zellen in lockerem Zusammenhang.

Auch die Form der Kolonien weicht von denjenigen der No. 3 ab; sie ist sehr unregelmässig; bei No. 3 erscheinen die Zellen nach allen Richtungen hin gleichmässig ausgebreitet. Über die Zellform des dichteren Kernes lässt sich nur aussagen, dass sehr viele Riesenzellen vorhanden waren. Es sind alle Formen ausser langgestreckten Zellen vertreten. Das Plasma der Zellen hat sich zurückgezogen und ist fast vollständig verschwunden und es füllen grosse Vacuolen fast den ganzen Binnenraum der Zellen aus; Granula fehlen. Der Unterschied im Lichtbrechungsvermögen zwischen den kleinen ovalen Zellen an der Peripherie und der umgebenden Nährflüssigkeit ist gering, so dass die Zellen schwer sichtbar sind.

No. 4 unterschied sich von No. 1 und 3 durch häufiges Auftreten von Riesenzellen.

No. 7. Die Kolonien sind gut entwickelt und in ähnlicher Weise wie bei No. 1 und 3 gleichmässig ausgebreitet, unterscheiden sich aber von jenen wesentlich dadurch, dass die Zellen viel enger wie bei No. 4 nebeneinander liegen. Eine schleimige Substanz, in welche die Zellen hier eingebettet zu sein schienen, war mit den üblichen Hilfsmitteln nicht nachzuweisen. Es sind weder Riesen- noch langgestreckte Zellen vorhanden, dagegen finden sich sehr häufig die übrigen Formen vertreten. Es tritt also auch bei den Apiculatushefen die Erscheinung auf, dass die Neigung zur Ausbildung von Riesenzellen bei verschiedenen Sprosspilzformen verschieden

ist. Die Zellen sind durchschnittlich klein. Der Zellinhalt ist fast vollständig verschwunden und es füllen grosse Vacuolen fast den ganzen Binnenraum der Zellen aus. Die Zahl der Granula ist sehr verschieden und wechselt zwischen 1 und 3.

Schon die vorliegenden Untersuchungsergebnisse lassen ersehen, dass zwischen einzelnen der vorliegenden Apiculatushefen, wenn auch nicht sehr bedeutende, immerhin doch gewisse Unterschiede zu erkennen sind, die um so beachtenswerter erscheinen, als sie bei den wiederholten Versuchen sich als beständig erwiesen.

Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen Nährflüssigkeit.

Der Versuch hatte den Zweck, die Erscheinungen zu beobachten, welche auftreten, wenn sich die Apiculatusformen in grösseren Mengen verschiedener Nährlösungen entwickeln. Im besonderen war in Betracht zu ziehen, ob eine Oberflächenvegetation (Hautbildung) auftritt, in welcher Weise diese zur Ausbildung gelangt und welche Zellformen in den verschiedenen Entwicklungsstadien das mikroskopische Bild beherrschen. Ferner, welche Nährböden den Apiculatushefen besonders zusagen, gemessen nach der Menge des erzeugten Bodensatzes und der Entwicklung einer Oberflächenvegetation. Aus den folgenden Tabellen sind die verwendeten Nährlösungen ersichtlich. Ausserdem war zu vergleichen, ob die bei den vier Apiculatusformen in den verschiedenen Nährlösungen auftretenden Erscheinungen zu der gleichen Gruppenbildung führt, wie die Wachstumserscheinungen auf den festen Nährböden, ob also aus jenen sich diagnostische Merkmale ableiten lassen oder nicht.

Der Versuch wurde folgendermassen angelegt: Die Nährlösungen wurden zu je 100 ccm in Pasteurkolben abgefüllt und drei Viertel Stunden im Dampftopf sterilisiert. Nachdem die Kolben einige Tage gestanden, wurden sie mit den betreffenden Kulturen, die drei Tage alt waren, geimpft. Das Impfmaterial sah sehr gut aus und

war rein. Der Versuch wurde bei Zimmertemperatur ausgeführt. Die Kolben blieben während 83 Tagen ruhig stehen. Bei allen Versuchen wurden Paralellkulturen angelegt.

In den nachfolgenden Tabellen sind die Wachstumserscheinungen der vier Kulturen in den verschiedenen Nährlösungen im einzelnen angegeben.

Nr. 1 Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen Nährflüssigkeit.

Nach Tagen	Würze ungehopft	Würze ungehopft + 3 % Dextrose	Würze ungehopft + 3 % Saccharose	Würze gehopft	Würze gehopft + 3 % Dextrose
8	Beide Kulturen zeigen geringe Ringbildung; auf der Oberfläche kleine Hautinselchen von unregelmäßiger Form u. grauweißer Farbe. Die Flüßigkeit ist schwach getrübt und am Boden ist ein mäßiger Bodensatz von brauner Farbe.	Auf beiden Kulturen noch sehr dünne, teilweise geschlossene Haut. Keine Ringbildung. Flüßigkeit schwach getrübt. Bodensatz mäßig u. von brauner Farbe. Keine Gärung.	Beide Kulturen mit Ring- und Hautbildung. Auf der Oberfläche wenige kleine unregelmäßige Inseln von grauweißer Farbe. Flüßigkeit schwach getrübt. Sehr mäßiger Bodensatz von gelblich brauner Farbe, der als Ganzes aber schwer fliesst.	Beide Kulturen mit Ring- und Hautbildung. Größere Hautinselchen, die selbst wieder aus kleinen wie erstarrte Oeltröpfchen aussehende Kolonien zusammengesetzt sind, Flüßigkeit schwach getrübt. Sehr mäßiger Bodensatz von gelblich brauner Farbe.	Beide Kulturen schwache Ringbildung. Eine sehr dünne aber nicht geschlossene Haut hat sich über die ganze Oberfläche ausgebreitet. Flüssigkeit schwach getrübt. Sehr mäßiger Bodensatz von gelblich brauner Farbe.
14	Schwache Ringbildung, Hautbildung wenig vorgeschritten, sehr schwache Trübung; sehr mäßiger Bodensatz, der als Ganzes fließt. Zentrale Partie kompakter und heller als die äußere flockige u. dunklere Partie.	Schwache Ringbildung, grauweiße, nicht zusammenhängende, einen großen Teil der Oberfläche bedeckende Haut. Schwache Trübung. Mäßiger, als Ganzes leicht fließender Bodensatz. Zentrale Partie kompakter und heller als äußere flockige und dunklere Partie.	Sehr schwache Ringbildung, mäßige Hautbildung im gleichen Sinne wie bei Würze ungehopft plus 3 Prozent Dextrose. Trübung und Absatz.	Nicht geschlossener Ring, auf der ganzen Oberfläche kleinere Hautinselchen. Keine Trübung, sehr mäßiger Bodensatz.	Mässige Ringbildung. Fast geschlossene Haut von grauweißer Farbe. Trübung kann nicht beobachtet werden, da der mäßig starke Absatz sich an den Wandungen bis fast zur Oberfläche absetzt.
21	Auf der einen Kultur bedeutend mehr Hautbildung als auf der zweiten, sonst jedoch unverändert.	Bei einer Kultur Haut fast geschlossen, bei der zweiten jedoch nicht. Neues sonst nicht zu beobachten.	Mäßige Ring- und Hautbildung, sonst wie bei Würze ungehopft.	Wie früher.	Haut von gelblichbrauner Farbe. Noch nicht ganz geschlossene Haut. Im übrigen unverändert.
59	Nur mehr wenig Hautbildung, da die Haut zu Boden gesunken ist.	Hautbildung nur bei einer Kultur etwas vorgeschritten.	Keine neuen Wachstumserscheinungen.	Wie früher.	Haut teilweise geschlossen.
83	Der braune Bodensatz haftet fest am Glas.	Der braune Bodensatz ist festhaftend und viel stärker als in Würze ungehopft.	Wie in Würze ungehopft.	Keine weiteren Veränderungen, festhaftend. Bodensatz.	Festhaftender Bodensatz von brauner Farbe.

No. 1

Nach Tagen	Würze gehopft + 3% Saccharose	Reinhefebier	Traubenmost	Kartoffelwasser	Gelbrübenwasser
8	Sehr schwache Ringbildung. Grössere Hautinselchen, teils wie erstarrte Öltröpfchen, teils unregelmässig aussehend. Schwache Trübung; sehr mässiger Bodensatz von gelblich brauner Farbe.	Geringe Ringbildung, weder Hautbildung noch Trübung der Flüssigkeit. Sehr mässiger, gleichmässig verteilter Absatz von dunkelbrauner Farbe.	Lebhafte Gärung. Weder Ring- noch Hautbildung, starke Trübung sehr mässiger Bodensatz von brauner Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung. Sehr schwache Trübung, mässiger Bodensatz von gelblich weisser Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung. Starke Trübung, starker Bodensatz, von gelblich weisser Farbe nur im unteren Teile des Gefässes.
14	Schwache Ringbildung. Grössere und kleinere Hautinselchen von mattgrauer Farbe u. unregelmässiger Form. Der mässige Bodensatz fliesst als Ganzes und zieht sich an den Wandungen der Kolben empor.	Unverändert.	Immer noch lebhafte Gärung. Trübung ist ziemlich schwach geworden. Absatz hat sich kaum vermehrt.	Absatz hat sich etwas vermehrt; sonst aber unverändert.	Schwache Trübung, starker Bodensatz von brauner Farbe, der als ganzes fliesst.
21	Hautbildung weit vorgeschritten, jedoch noch nicht geschlossen. Farbe der Haut ist gelblich braun.	Bodensatz etwas stärker geworden.	Gärung nahezu beendet. In einer Kultur auf der Oberfläche kleine unregelmässige Hautinseln, keine Ringbildung, keine Trübung, sehr mässiger Bodensatz v. dunkelbraun. Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung, ziemlich starker, festhaftender Bodensatz.	Unverändert.
59	Unverändert.	Unverändert.	Gärung beendet; weder Ring- noch Hautbildung.	Unverändert.	Immer noch Trübung. Zentrale Partie des Absatzes dunkler als die periphere.
83	Bodensatz festhaftend; sonst unverändert.	Unverändert.	Festhaftender, fast schwarzer Bodensatz, im übrigen unverändert.	Unverändert.	Unverändert.

No. 1

Nach Tagen	Weissrübenwasser	Weisskrautwasser	Vollmilch	Magermilch	Hayduck's Nährlösung	Hefenwasser + 3% Dextrose.
8	Weder Ring- noch Hautbildung, mässige Trübung, mässiger Bodenbesatz von gelblich weisser Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung; starker Absatz, der sich bis zum Flüssigkeitsrand emporzieht. Der Absatz ist braun und fliesst als Ganzes.	Schwacher Bodensatz, der sich bei der Untersuchung als Eisweissausscheidungen erwies. An den unteren Teilen des Kolbens haften an den Wandungen kleine Gasblasen.	Zeigt die gleichen Erscheinungen, wie Vollmilch.	Nur sehr schwacher Bodensatz, der sich an den Wänden ablagert.	Weder Ring- noch Hautbildung. Flüssigkeit ziemlich stark getrübt. Mässiger leicht fliessender Bodensatz von gelblich weisser Farbe.
14	Auf der Oberfläche einige grössere Gasblasen (ob durch Gärung?) Mässiger Absatz von gelblich weisser Farbe.	Starker Absatz von gelblich brauner Farbe.	Keine weiteren Veränderungen.	Unverändert.	In einer Kultur deutlich weisser schwacher Bodensatz.	Schwache Trübung, mässiger, scharf abgesetzter Bodensatz.
21	Schwache Trübung, mässiger in seiner Gesamtheit fliessender Bodensatz.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Sehr geringe Vermehrung. In beiden Kulturen deutlich weisser Bodensatz.	Schwache Trübung sonst unverändert.
59	Keine Trübung mehr, sonst unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Der schwache Bodensatz hat sich scharf abgesetzt.	Keine Trübung.
83	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.

No. 1

Nach Tagen	Hefenwasser + 3% Saccharose.	Hefenwasser + 2% Pepton.	Hefenwasser + 2% Pepton + 3% Dextrose.	Hefenwasser + 2% Pepton + 3% Saccharose.
8	Weder Ring- noch Hautbildung. Flüssigkeit nicht getrübt. Sehr schwacher Bodensatz.	Weder Ring- noch Hautbildung. Keine Trübung. Äusserst schwacher Bodensatz.	Schwache Ringbildung. Keine Hautbildung; keine Trübung der Flüssigkeit. Scharf abgesetzter, ziemlich starker Absatz von gelblich weisser Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung. Flüssigkeit schwach getrübt. Schwacher Bodensatz.
14	Sehr wenig Bodensatz von gelblich weisser Farbe.	Bodensatz hat sich kaum vermehrt.	In der Flüssigkeit schwimmen kleine unregelmässige Kolonien. Sehr schwache Trübung. Bodensatz unverändert.	Vermehrung vorgeschritten, jedoch noch sehr gering. Auf den ganzen Wandungen des Kulturgefässes, schwacher Belag.
21	Sehr langsame Vermehrung.	Weiteres Wachstum nicht zu beobachten.	Unverändert.	Vermehrung schreitet langsam vorwärts. Am Boden befinden sich viele kleine Kolonien, ausserdem schwacher Wandbelag. Keine Trübung.
59	Der Bodensatz hat sich in Form vieler einzelner Kolonien abgesetzt.	Unverändert.	Unverändert.	Kolonien wachsen sehr langsam weiter.
83	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.

No. 3 Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen Nährflüssigkeit.

Nach Tagen	Würze ungehopft	Würze ungehopft + 3% Dextrose	Würze ungehopft + 3% Saccharose	Würze gehopft	Würze gehopft + 3% Dextrose
8	Sehr schwacher Ring, keine Haut, mässige Trübung, mässiger Absatz von brauner Farbe, der als Ganzes ziemlich leicht fliesst. Keine Gärung.	Schwache Ringbildung, sehr dünne, noch nicht geschlossene Haut. Ziemlich starke Trübung. Mässiger Absatz von brauner Farbe. Keine Gärung.	Die eine Kultur schwache Ringbildung, die 2. dagegen nicht. Keine Hautbildung, ziemlich starke Trübung. Mässiger Absatz von bräunlicher Farbe. Keine Gärung.	Schwache Ringbildung. In der Nähe des Ringes zeigen sich auf der Oberfläche wenige unregelmässige kleine Hautinselchen. Mässige Trübung. Sehr mässiger Absatz von gelbbrauner Farbe, der als gecchlossenes Ganzes fliesst. Keine Gärung.	Schwache Ringbildung. Die eine Kultur zeigte eine zwar noch sehr dünne, jedoch fast geschlossene Haut, während die 2. Kultur noch nicht so weit vorgeschritten ist. Ziemlich starke Trübung; ziemlich starker Bodensatz von gelblich brauner Farbe. Belag an den Wandungen. Absatz fliesst zusammenhängend. Keine Gärung.
14	Wie früher, nur dass auf der Oberfläche, wenige unregelmässige Kolonien schwimmen.	Hautbildung ist kaum vorgeschritten. Der braune Absatz ist z. T. kompakt, z. T. flockig.	Es zeigt sich noch immer keine Haut. Der Bodensatz fliesst ziemlich leicht.	Die Hautinselchen haben sich vermehrt und auf der Oberfläche verteilt.	Die Hautbildung ist vorgeschritten, jedoch noch nicht geschlossen. Die Farbe der Haut ist grau.
21	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Hautbildung schreitet langsam vorwärts.	Die Haut ist bis auf einige Lücken geschlossen.
59	Hautinselchen sind zu Boden gefallen.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.
83	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.

No. 3

Nach Tagen	Würze gehopft + 3% Saccharose	Reinhefebier	Traubenmost	Kartoffelwasser	Gelbrübenwasser	Weissrübenwasser
8	Keine Ringbildung. Die eine Kultur ziemlich viele grössere unregelmässige Hautinselchen, die 2. dagegen nicht. Mässige Trübung. Bodensatz von bräunlicher Farbe, der geschlossen fliesst. Keine Gärung.	Sehr geringe Ringbildung, keine Hautbildung, mässige Trübung. Sehr mässiger dunkelbrauner, flockiger Bodensatz. Keine Gärung.	Ziemlich starke Gärung. Weder Ring- noch Hautbildung. Schwache Trübung. Mässiger brauner Absatz, der in seiner Gesamtheit leicht fliesst. Absatz kompakter als bei No. 1.	Weder Ring- noch Hautbildung, sehr schwache Trübung, mässiger Absatz von gelblich weißer Farbe.	Keine Ring- und Hautbildung, mässige Trübung, ziemlich starker Absatz von gelblich brauner Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung, mässige Trübung. Starker leicht fliessender Bodensatz von gelblich brauner Farbe.
14	Unverändert.	Unverändert	Gärung fast beendet. Sonst unverändert.	Keine Trübung.	Auf der Oberfläche schwimmen vereinzelt mässige grosse noch sehr dünne kreisrunde Hautinselchen.	Keine Trübung.
21	Geringe Ringbildung. Eine Kultur zeigt sehr schwache Hautbildung. Keine Trübung.	In der Nähe der Wandungen schwimmen kleine Kolonien, (ob im Innern der Flüssigkeit kann nicht unterschieden werden).	Gärung beendet. Weder Ring- noch Hautbildung. Keine Trübung.	Der Absatz zieht sich allmählich an den Wandungen empor.	Flüssigkeit fast vollständig klar.	Unverändert.
59	Hautbildung nicht weiter vorgeschritten.	Weder Hautbildung noch Trübung, Absatz von fast schwarzer Farbe.	Unverändert.	Unverändert.	Keine Trübung. Absatz wie früher.	Unverändert.
83	Unverändert.	Unverändert	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.

No. 3

Nach Tagen	Weißkrautwasser	Vollmilch	Magermilch	Hayduck's Nährlösung	Hefenwasser + 3% Dextrose
8	Weder Ring- noch Hautbild ng, keine Trübung. Starker Bodensatz, von gelblicher Farbe.	Ziemlich schwacher Bodensatz, der sich bei der späteren Untersuchung als Eiweiss erwies. An den unteren Teilen der Kolbenwandungen kleine Gasbläschen. Absatz von fast weisser Farbe.	Stärkerer Bodensatz als bei Vollmilch, zeigt aber sonst die gleichen Erscheinungen wie dort.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung. Sehr geringer Bodensatz von weisser Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung. Bei der einen Kultur ist nur der untere Teil der Flüssigkeit getrübt, während bei der 2. Kultur die ganze Flüssigkeit mässig getrübt erscheint. Scharf abgesetzter, mässiger Bodensatz von gelblich weisser Farbe, der leicht fliesst.
14	Der Bodensatz fließt leicht als Ganzes.	Unverändert.	Unverändert.	Geringe Vermehrung; in einer Kultur schwacher, jedoch scharf abgesetzter Bodensatz.	Unverändert.
21	Unverändert.	Die Gasblasen sind verschwunden. Die ganze Flüssigkeit hat einen Stich in's Gelbe.	Die Flüssigkeit hat einen Stich in's Gelbe.	Vermehrung schreitet langsam vorwärts. In beiden Kulturen schwacher aber scharf abgesetzter weisser Bodenbelag.	Schwache Trübung. Der Bodensatz ist geringer, als bei Würze ungehopft.
59	Unverändert.	Unverändert.	Gasbläschen verschwunden.	Ausser dem scharf abgesetzten Bodensatz zeigen sich an den Wandungen noch viele sehr kleine weisse Kolonien.	Es ist immer noch schwache Trübung vorhanden.
83	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.

Nr. 3.

Nach Tagen	Hefenwasser + 3 % Saccharose.	Hefenwasser + 2 % Pepton	Hefenwasser + 2 % Pepton + 3 % Dextrose	Hefenwasser + 2 % Pepton + 3 % Saccharose
8	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung, sehr wenig Absatz an den Wandungen.	Zeigt dieselben Erscheinungen wie in Hefenwasser + 3 % Saccharose.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung, scharf abgesetzter, ziemlich starker Bodensatz, von gelblich weisser Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung. An den Wandungen schwacher Belag und am Boden kleine Kolonien.
14	Geringe Vermehrung.	Weiteres Wachstum sehr gering.	Schwache Ringbildung und schwache Trübung, sonst unverändert.	Im Verhältnis zum Wachstum in Hefenwasser ohne Peptonzusatz kräftigere Vermehrung, bleibt jedoch hinter den meisten übrigen Nährböden zurück.
21	Kein weiteres Wachstum mehr zu beobachten.	Das Wachstum schreitet nur sehr langsam vorwärts.	Bodensatz ist stärker geworden. Im übrigen ist das Aussehen der Kultur unverändert.	Schwache Ringbildung. Bodensatz besteht aus vielen kleinen Kolonien, die langsam weiterwachsen.
59	Der Absatz hat sich schwach vermehrt u. bildet einzelne kleine flockige Kolonien, die leicht von den Wandungen weggehen.	Kein weiteres Wachstum.	Unverändert.	Vermehrung schreitet langsam vorwärts.
83	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.

No. 4 Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen Nährflüssigkeit.

Nach Tagen	Würze ungehopft.	Würze ungehopft + 3% Dextrose	Würze ungehopft + 3% Saccharose.	Würze gehopft.
8	Mässige Ringbildung. Hautbildung schon ziemlich weit vorgeschritten, z. T. geschlossene Haut, z. T. Hautinseln wie erstarrte Fetttröpfchen aussehend. Trübung kann nicht beobachtet werden, da sich der flockige Absatz an den Wandungen des Kolbens bis zur Höhe der Flüssigkeitsoberfläche emporzieht. Farbe des Bodensatzes braun. Keine Gärung.	Mässige Ringbildung. Hautbildung noch gering, einzelne Hautinselchen von unregelmässiger Form, ziemlich starke Trübung. Absatz wie bei Würze ungehopft. Keine Gärung.	Zeigt die gleichen Wachstumserscheinungen wie in Würze ungehopft.	Ziemlich starke Ringbildung. Auf der Oberfläche kleine Hautinselchen, die wie erstarrte Fetttröpfchen aussehen; an manchen Stellen haben sich schon mehrere solcher Tröpfchen zu einer grösseren Hautinsel vereinigt. Trübung ist sehr gering. Ziemlich starker, flockiger, dunkelbraun gefärbter Bodensatz. Keine Gärung.
14	Ringbildung weiter vorgeschritten, stellenweise grosse Hautinseln, keine Trübung. Der Bodensatz reicht bis zur Flüssigkeitsoberfläche.	Haut fast geschlossen. Bodensatz reicht bis zur Flüssigkeitsoberfläche.	Wie in Würze ungehopft.	Ringbildung, Hautinselchen noch nicht zu einer Haut geschlossen, keine Trübung, starker Bodensatz.
21	Ziemlich starke Ringbildung, stellenweise grössere, häufig auch kleinere Hautinseln von grauweisser Farbe. Der starke Bodensatz reicht bis zur Oberfläche der Flüssigkeit.	Mässige Ringbildung, zieht sich an den Wandungen bis ungefähr 5 mm über die Flüssigkeitsoberfläche empor. Die Oberfläche ist von einer glatten, dünnen, grauweissen, schleimigen Haut bedeckt. Keine Trübung. Ziemlich starker Bodensatz, der sich an den Wandungen gleichmässig absetzt.	Mässige Ringbildung. Die ganze Oberfläche ist bei der einen Kultur mit grösseren, bei der 2. mit kleineren Hautinseln dicht bedeckt, die sich teilweise schon zu grösseren Hautinseln vereinigt haben. In der Flüssigkeit schwimmen kleinere unregelmässige Kolonien, die aussehen, als ob es Hautinselchen wären, die von der Oberfläche in das Innere der Flüssigkeit gekommen sind. Keine Trübung; sehr starker, fleckiger Bodensatz von brauner Farbe.	Ziemlich starke Ringbildung. Im übrigen wächst die Kultur im gleichen Sinn wie früher weiter.
59	Starke Ringbildung, sehr dünne fast geschlossene Haut. (Haut schon teilweise zu Boden gefallen). Sonst unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Dünne geschlossene Haut, in der einzelne dickere Hautinseln eingelagert sind. Keine Trübung. Im übrigen unverändert.
83	Graue geschlossene Haut, sonst unverändert.	Unverändert.	Mässige Ringbildung, geschlossene Haut, keine Trübung, Absatz unverändert.	Unverändert.

No. 4

Nach Tagen	Würze gehopft + 3% Dextrose.	Würze gehopft + 3% Saccharose	Reinhefebier.	Traubenmost.	Kartoffelwasser
8	Schwache Ringbildung. Der Ring zieht sich bis ungefähr 5 mm über den Rand der Flüssigkeitsoberfläche, kleine unregelmässige Hautinselchen. Trübung schwach, Bodensatz wie in Würze ungehopft plus 3 Proz. Dextrose. Keine Gärung.	Ring an einer Stelle ziemlich stark, jedoch noch nicht geschlossen. Auf der Oberfläche schwimmen dicht gedrängt kleine und grössere wie erstarrte Fetttröpfchen aussehende graue Hautinseln, die sich z. T. zu einer geschlossenen Haut vereinigt haben. Keine Trübung. Bodensatz an den Wandungen bis zum Rande der Oberfläche, stark flockig und von brauner Farbe. Keine Gärung.	Schwache Ringbildung. Die ganze Oberfläche ist mit wie erstarrte Fetttröpfchen aussehenden Hautinselchen von grauer Farbe bedeckt. Schwache Trübung. Die Wandungen unterhalb der Flüssigkeit sind mit braunem Absatz, bedeckt. Keine Gärung.	Keine Ringbildung. Oberhalb der Flüssigkeit zieht sich die Haut an den Wandungen empor, schwache Trübung. Mässiger Bodensatz von brauner Farbe, ist auf der Wandung gleichmässig verteilt. Keine Gärung.	Keine Ringbildung. Am Rande vereinzelt Hautinselchen, dagegen in der Mitte nicht, schwache Trübung, mässiger Absatz von gelblich weisser Farbe. Keine Gärung.
14	Mässige Ringbildung, wahrscheinlich geschlossene, aber sehr dünne Haut. Keine Trübung, starker Bodensatz.	Ring geschlossen, viele Hautinselchen, teilweise zu einer Haut geschlossen, keine Trübung, mässiger Bodensatz.	Hautinseln weiter gewachsen, keine Trübung, mässig starker Bodensatz.	Keine Ringbildung; sehr dünne über die ganze Flüssigkeit ausgebreitete nicht geschlossene Haut, keine Trübung, mässiger Bodensatz.	Keine Ringbildung, keine Hautbildung, schwache Trübung, mässiger Bodensatz.
21	Dünne, glatte, aber geschlossene, schleimig aussehende, graue Haut. Im übrigen unverändert.	Ziemlich starke Ringbildung. Die einzelnen Hautinselchen werden durch eine neugebildete noch dünne Haut mit einander verbunden.	Grosse dichtgedrängte, graue Hautinseln, die eine fast geschlossene Haut bilden.	Schwache Ringbildung. In einer Kultur sehr dünne fast geschlossene Haut; in der 2. Kultur ist die Hautbildung noch wenig vorgeschritten.	Keine Ringbildung. Am Rande ungefähr 5 mm breite Haut. Auf dem übrigen Teil der Flüssigkeitsoberfläche wenig runde Hautinselchen.
59	Unverändert.	Sehr dünne geschlossene Haut.	Haut mit Ausnahme weniger kleiner Lücken geschlossen.	Mässige Ringbildung. Eine Kultur geschlossene, 2. Kultur grösstenteils geschloss. Haut.	Keine Ringbildung. Bei einer Kultur grösstenteils dünne geschlossene, graue Haut.
83	Ziemlich starke Ringbildung. Starker Absatz von brauner Farbe, keine Trübung, dünne Haut wie früher.	Starker dunkelbrauner Bodensatz.	Geschlossene graue Haut. Der Bodensatz ist stärker geworden und von dunkelbrauner Farbe.	Bodensatz von fast schwarzer Farbe.	Hautbildung schreitet langsam vorwärts.

No. 4

Nach Tagen	Gelbrübenwasser	Weissrübenwasser	Weisskrautwasser	Vollmilch	Magermilch	Hayduck's Nährlösung
8	Wachstum wie im Kartoffelwasser, nur Bodensatz von bräunlicher Farbe.	Keine Ringbildung; sehr dünne Haut, die noch nicht geschlossen ist. Keine Trübung, mässiger Bodensatz von gelblicher Farbe.	Keine Ringbildung. Sehr dünne ungefähr 1 Viertel der Oberfläche bedeckende Haut. Keine Trübung. Ziemlich starker Bodensatz von bräunlich. Farbe.	Schwacher nicht mit Bestimmtheit festzustellender Bodensatz. An dem untern Teil der Wandungen kleine Gasbläschen.	Schwacher Bodensatz, Gasbläschen haften an den Wandungen.	An den Wandungen sehr wenig Absatz. Sonstige Wachstumserscheinungen fehlen.
14	Schwache Ringbildung; sehr kleine Hautinseln von grauer Farbe schwimmen noch einzeln auf der Oberfläche. Keine Trübung, sehr mässiger Bodensatz, leicht in seiner Gesamtheit fliessend.	Unregelmässig gestaltete noch nicht geschlossene Haut.	Sehr dünne, noch nicht geschlossene Haut. Keine Trübung. Starker Bodensatz, jedoch nicht so stark als von No. 1 und 3. Absatz tief braun gefärbt, schwer fliessend.	Gasbläschen verschwunden.	Unverändert.	Unverändert.
21	Am Rande haben sich die Hautinseln zu einer zusammenhängenden Haut vereinigt; im übrigen Teil der Oberfläche schwimmen die runden Inselchen noch vereinzelt. Bodensatz dunkel gefärbt.	Geringe Ringbildung, Haut nahezu geschlossen. Der mässige gleichmässig verteilte Absatz ist locker.	Schwache Ringbildung.	Die Flüssigkeit hat einen Stich in's gelbliche. Sonst unverändert.	Die Flüssigkeit hat einen Stich in's Gelbliche. Gasbläschen noch vorhanden.	Sehr geringe Vermehrung. Absatz nicht deutlich scharf abgesetzt.
59	Mässige Ringbildung. Bei einer Kultur Hautinseln sehr dicht beisammen, so dass sie fast eine geschlossene Haut bilden. 2. Kultur keine so starke Hautbildung.	Schwache Ringbildung. Grösstenteils geschlossene gelblich weisse Haut.	Sehr dünne schlierenartig aussehende Haut.	Unverändert.	Unverändert.	Kein weiteres Wachstum.
83	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Der schon nach 8 Tagen beobachtete schwache Bodensatz erwies sich als Ausscheidung. Vermehrung war nicht zu beobachten.	Die gleichen Erscheinungen wie bei Vollmilch.	Unverändert.

No. 4

Nach Tagen	Hefenwasser + 3% Dextrose	Hefenwasser + 3% Saccharose	Hefenwasser + 2% Pepton	Hefenwasser + 2% Pepton + 3% Dextrose	Hefenwasser + 2% + 3% Saccharose
8	Schwache Ringbildung. Auf der Oberfläche schwimmen kleine runde Hautinselchen. Keine Trübung; sehr mässiger Bodensatz, der sich etwas an den Wandungen emporzieht. Farbe des Absatzes dunkler als von No. 1 und 3.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung, sehr schwacher Bodensatz.	Verhält sich wie Hefenwasser + 3% Saccharose.	Keine Ringbildung. Sehr dünne noch nicht geschlossene Hautschichte. Keine Trübung, starker Bodensatz von gelblich weisser Farbe.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung. Sehr wenig Bodensatz.
14	Schwache Ringbildung. Wie erstarrte Fettröpfchen aussehende Hautinselchen, keine Trübung, mässiger Bodensatz.	Unverändert.	Unverändert.	Schwache Ringbildung, sonst unverändert.	Schwache Ringbildung, sonst unverändert.
21	Die Hautinselchen haben sich grösstenteils zu einer geschlossenen grauen Haut vereinigt.	Vermehrung kaum vorgeschritten.	Vermehrung langsam vorgeschritten.	Fast geschlossene Haut von grauweisser Farbe.	Sehr geringe Vermehrung. Keine Kolonien sichtbar, sondern gleichmässiger Bodensatz.
59	Einzelne grosse Hautinseln. Die Haut fällt schon bei vorsichtigem Heben leicht zu Boden.	Unverändert.	Unverändert.	Starke Ringbildung. Geschlossene graue schleimig aussehende Haut.	Vermehrung schreitet langsam vorwärts.
83	Mässige Ringbildung, grau geschlossene Haut. Bodensatz unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Haut fällt leicht zu Boden. Sonst unverändert.	Kein Wachstum mehr zu beobachten.

No. 7 Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen Nährflüssigkeit.

Nach Tagen	Würze ungehopft	Würze ungehopft + 3% Dextrose	Würze ungehopft + 3% Saccharose	Würze gehopft	Würze gehopft + 3% Dextrose
8	Keine Ringbildung, am Rand entlang schwache Hautbildung, in der Mitte dagegen nicht, starke Trübung. Mässiger, bräunlicher Absatz, z. T. kompakt, z. T. flockig. Der kompakte Teil fließt sehr schwer.	Keine Ringbildung, auf der Oberfläche sehr wenige, dünne unregelmässige Hautinselchen, starke Trübung. Mässiger brauner Bodensatz.	Keine Ringbildung. Am Rand entlang geringe Hautbildung, starke Trübung, mässiger Absatz v. bräunlicher Farbe. Zentrale dunklere Partie kompakter als der periphere Teil.	Keine Ringbildung. Am Rand entlang kleine unregelmässige Hautinselchen, schwache Trübung, mässiger Bodensatz von bräunl. Farbe. Bodensatz in der Mitte heller, kompakter und langsam fliessend, äussere Partie flockig.	Keine Ringbildung, sehr dünne, grossenteils geschlossene Haut. Mässige Trübung und ziemlich starker Absatz von brauner Farbe.
14	Wenige unregelmässige Hautinselchen, mässige Trübung.	Schwache Ringbildung, Hautinselchen haben sich kaum vermehrt, schwache Trübung, mässiger Absatz, z. T. kompakt, z. T. flockig. Der flockige Teil ist fliessend.	Wenige unregelmässige noch sehr dünne Hautinselchen, mässige Trübung.	Wenige unregelmässige graue Hautinselchen, mässige Trübung, ziemlich starker Bodensatz.	Schwache Ringbildung, unregelmässige, graue Hautinselchen, schwache Trübung. Bodensatz ziemlich stark; zentrale Partie fliesst in ihrer Gesamtheit geschlossen, äussere Partie lockerer.
21	Unverändert.	Die Hautbildung schreitet langsam vorwärts.	Keine weiteren Wachstumserscheinungen wahrzunehmen.	Schwache Ringbildung. Hautinselchen stark vermehrt, bedecken fast die ganze Oberfläche, jedoch nicht zusammenhängend. Inselchen noch sehr dünn.	Teilweise geschlossene Haut. Keine Trübung mehr.
59	Schwache Ringbildung, sonst unverändert.	Haut wächst langsam weiter.	Unverändert.	Geschlossene dünne Haut.	Fast geschlossene graue Haut. Sonst unverändert.
83	Hautbildung kaum vorgeschritten, keine Trübung, brauner Absatz.	Dünne, fast geschlossene graue Haut, keine Trübung, Absatz braun, wobei die zentrale Partie heller ist.	Wie in Würze ungehopft.	Die ganze Oberfläche ist mit unregelmässigen Hautinseln bedeckt. Keine Trübung. Absatz ist noch stärker geworden.	Mässige Ringbildung. Sonst unverändert.

No. 7

Nach Tagen	Würze gehopft + 3% Saccharose	Bier	Most	Kartoffelwasser	Gelbrübenwasser	Weissrübenwasser
8	Keine Ringbildung, am Rand entlang einzelne unregelmässige Hautinselchen, sehr schwache Trübung, mässiger Bodensatz.	Keine Ringbildung am Rand entlang einzelne unregelmässige Trübung, mässiger Bodensatz v. brauner Farbe.	Bis jetzt nur mässiger Bodensatz von brauner Farbe.	Am Glase haftet oberhalb der Flüssigkeit zusammenhängende Haut, mässig starker Absatz von gelblich weisser Farbe.	Sehr mässiger Bodensatz von brauner Farbe.	Bis jetzt mässiger Absatz von gelblicher Farbe, z. T. kompakt, z. T. lokker, leicht fliessend in seiner Gesamtheit.
14	Wie in Würze gehopft, jedoch keine Trübung.	Am Rande zieht sich die Haut empor, sonst unverändert.	Mässig starker Absatz.	Schwache Trübung, ziemlich starker Bodensatz.	Bodensatz unverändert. Am Rande des Absatzes hellere Zone.	Beginnende Hautbildung.
21	Sehr schwache Ringbildung, Hautbildung weiter vorgeschritten, bedeckt ungefähr 1/2 der Oberfläche und ist noch sehr dünn. Absatz wie früher. Zentrale Partie heller, fliesst als Ganzes, äussere Partie dunkler u. flockig.	Geringe Ringbildung. Es zeigen sich jetzt einzelne grössere u. kleinere Hautinseln. Mässiger lockerer, flockiger dunkler Absatz, der gleichmässig verteilt ist.	Flüssigkeit trüb, Absatz mässig, bei einer Kultur kompakt und schwer fliessend.	Keine Ringbildung, keine Hautbildung, Kulturen klar. Ziemlich starker Absatz festhaftend u. gleichmässig verteilt.	Sehr schwache Trübung, sonst unverändert.	Sehr wenig Ringbildung, Haut über die ganze Oberfläche verbreitet, bedeckt sie jedoch nur zur Hälfte. Keine Trübung.
59	Schwache Ringbildung, dünne fast geschlossene Haut, welche mattgrau ist.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Zahlreiche unregelmässige Hautinseln.	Unverändert.
83	Mässige Ringbildung, fast geschlossene Haut.	Haut ist zu Boden gefallen, keine Trübung.	Sehr wenig unregelmässige Hautinseln. Keine Trübung, fast schwarzer Bodensatz.	Keine Trübung. Sonst unverändert.	Sehr leicht zu Boden fallende Hautinseln, keine Trübung, fast schwarzer Bodensatz.	Haut zu Boden gefallen. Brauner, schwer fliessender Bodensatz.

No. 7

Nach Tagen	Weisskrautwasser	Vollmilch	Magermilch	Hayduck's Nährlösung	Hefenwasser + 3% Dextrose	Hefenwasser + 3% Saccharose
8	Auf der Oberfläche dunkle Ausscheidungen. Starker Absatz von gelblich brauner Farbe.	Wenig Absatz von gelblich weisser Farbe. An den Wandungen haften kleine Gasbläschen.	Zeigt die gleichen Wachstumserscheinungen wie Vollmilch.	Sehr geringer Bodensatz.	Weder Ring- noch Hautbildung, keine Trübung, sehr mässiger scharf abgesetzter Bodensatz, der sich etwas an den Wandungen bis zum Rand emporzieht. Absatz fliesst und zieht sich wolkenartig auseinander.	Sehr schwacher Absatz an den Wandungen.
14	Weder Ring- noch Hautbildung. Keine Trübung.	Unverändert.	Unverändert.	Wachstum kaum zu beobachten.	Unverändert.	Schwache Trübung.
21	Schwache Ringbildung keine Hautbildung, sehr schwache Trübung, Absatz wie früher, leicht fliessend.	Die Milch hat einen Stich in's Gelbliche.	Die Milch hat einen Stich in's Gelbliche.	Kein deutlicher Absatz.	Keine Ringbildung, am Rand entlang sehr wenige unregelmässige dünne Hautinselchen, sehr schwache Trübung.	Mässige Trübung. Schwacher Bodensatz.
59	Keine Trübung, sonst unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Absatz ähnlich wie von No. 1 u. 3, jedoch nicht so stark.	Auf der Oberfläche zahlreiche dünne unregelmässige Hautinseln, keine Trübung.	Sehr schwache Hautbildung. Keine Trübung.
8	Der Absatz ist dunkelbraun u. fliesst schwer in seiner Gesamtheit.	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.	Fast ganz geschlossene Haut.	Unverändert.

No. 7

Nach Tagen	Hefenwasser + 2% Pepton	Hefenwasser + 2% Pepton + 3% Dextrose	Hefenwasser + 2% Pepton + 3% Saccharose
8	Wachstumserscheinungen wie in Hefenwasser + 3% Saccharose.	Weder Ring- noch Hautbildung, starker Absatz von gelblich-weisser Farbe.	Sehr schwacher Absatz an den Wandungen.
14	Unverändert.	Schwache Trübung, sonst unverändert.	Weiteres Wachstum sehr gering.
21	Vermehrung schreitet langsam vorwärts.	Keine Trübung mehr.	Keine Kolonien, sondern gleichmässiger Bodensatz.
59	Unverändert.	Unverändert.	Unverändert.
83	Schwacher, lockerer Bodensatz.	Unverändert.	Geringer Bodensatz.

Fassen wir die übereinstimmenden Erscheinungen in der Mannigfaltigkeit der Einzelerscheinungen, welche sich beim Studium des Wachstums der vier Apiculatusformen in grösseren Mengen der verschiedenen Nährflüssigkeiten ergeben haben, zusammen und berücksichtigen wir die Abweichungen, welche sich bei den einzelnen untersuchten Formen geltend machen, so ergibt sich folgendes Bild: Günstig für die Vermehrung haben sich von den verwendeten Nährlösungen ungehopfte und gehopfte Würze mit und ohne Zusatz von Dextrose und Saccharose erwiesen, wenngleich die Hopfung bis zu einem gewissen Grad sichtlich die Vermehrung hemmte.

Gute Entwicklung findet in den Kulturen mit Dextrose, Lävulose, Galactose und Maltose statt. Dextrosezusatz fördert besonders die Entwicklung einer Oberflächenvegetation, während Zusatz von Saccharose, Milchzucker und Raffinose einen merklichen Einfluss auf die Vermehrung nicht ausübte. Es folgen die natürlichen Pflanzensäfte: Kartoffel-, Gelbrüben-, Weissrüben-, Weisskrautwasser und Traubenmost.

Eine für die Vermehrung günstige Zusammensetzung ergab sich auch für das verwendete Bier.

Hefenwasser, das für sich ein schlechter Nährboden für Apiculatus ist, wird durch Zusatz von Dextrose, Lävulose, Galactose und Maltose wesentlich verbessert, während ein Zusatz von Pepton, Saccharose, Milchzucker und Raffinose die Vermehrung nicht fördert.

Sehr wenig geeignet hat sich die aus Mineralsubstansen, Rohrzucker und Asparagin bestehende Haydücksche Nährlösung und am wenigsten Milch, worin nach dem mikroskopischen Befund keine Vermehrung stattgefunden hat, erwiesen. Neben der für die Vermehrung überhaupt mehr oder weniger günstigen Zusammensetzung der Nährlösungen macht sich bei den vier untersuchten Apiculatusformen ein verschiedenes spezifisches Vermehrungsvermögen geltend, das die höchste Stufe bei Nr. 4 aufweist, dann folgt Nr. 7, 1 und 3.

Das verhältnismässig starke Vermehrungsvermögen von Apiculatus No. 4 ist seit Jahren an den in gehopfter Bierwürze aufbewahrten Kulturen der wissenschaftlichen Station beobachtet worden; eine wesentliche Schwächung durch jene Art der Aufbewahrung ist also nicht erfolgt. Das verhältnismässig starke Vermehrungsvermögen hebt diese Apiculatusform aus den übrigen hervor, kann also als unterscheidendes Merkmal verwendet werden.

Eine Bevorzugung einer der verwendeten Nährlösungen durch die eine oder die andere der vier Apiculatusformen ist durch die Beobachtung nicht ersichtlich geworden. In den meisten Fällen wird die Nährlösung mit oder ohne Gärungserscheinungen infolge der Vermehrung der Zellen trüb; früher oder später tritt Klärung ein.

Die Bodensätze sind entsprechend dem Vermehrungsvermögen bei No. 4 im Vergleich zu denjenigen der anderen Formen am stärksten; bei No. 1 und 3 erreichen sie in den günstig zusammengesetzten Nährlösungen durchschnittlich nur mässigen, bei No. 7 in den meisten Fällen den gleichen Umfang wie bei No. 1 und 3, in den übrigen sind sie grösser als bei diesen.

Die Absätze waren im allgemeinen in den dunkler gefärbten Nährlösungen, also in Würze, in Most, Bier und Gelbrübenwasser braun in verschiedener Abstufung, in einzelnen Fällen (Most, Gelbrübenwasser, Bier) fast schwarz gefärbt. In Kartoffel-, Weissrüben-, Weisskraut- und Hefenwasser erschien die Färbung dagegen meist lichter, gelblich bis gelblichweiss. Eine Ausnahme davon bildete No. 4 im Hefenwasser + 3 % Dextrose mit dunkelbrauner, No. 4 und 7 in Weissrübenwasser mit brauner bis tiefbrauner und No. 7 in Weisskrautwasser mit dunkelbrauner Farbe. Die Färbung der Absätze ist sehr wahrscheinlich auf eine Einlagerung von Farbstoffen aus den Nährlösungen in die Zellhaut zurückzuführen. Es sprechen manche Beobachtungen dafür (vgl. Einzellkulturen in Nährflüssigkeiten), dass die Haut der Apiculatuszellen in verschiedenem Grade verschleimt ist.

Eine Entfärbung oder Hellerwerden von Würze oder Most war nicht zu beobachten.

Schander[1]) hat bei den von ihm untersuchten Apiculatusformen eine weitgehende Entfärbung von Most beobachtet, die vielleicht, wenigstens teilweise auf Einlagerung des Farbstoffes in die Zellhaut zurückzuführen ist. „Rheinhessischer Traubenmost wurde durch alle 24 untersuchten Apiculatushefen mehr oder minder entfärbt, von einigen derart, dass das Gärprodukt die Farbe eines hellen Bieres angenommen hatte.“ Über die Farbe des Bodensatzes sagt Schander nichts aus.

Die Beschaffenheit der Bodensätze ist sehr verschieden. Bei No. 1 anfangs locker, haftet der Bodensatz in Würze mit und ohne Zusätze und im Most später fest am Boden. In den anderen Kulturen bildet er eine leicht oder schwerflüssige, zusammenhängende Masse, die den Eindruck hervorruft, als ob die Zellen durch eine mehr oder weniger schleimige Substanz zusammengehalten würden. Vielleicht ist auch diese Erscheinung auf eine Verschleimung der Zellmembran zurückzuführen. Fadenziehend ist der Bodensatz nicht. In vereinzelten Fällen besteht der Bodensatz ganz oder teilweise aus einzelnen festhaftenden Kolonien. Bei No. 3 haften die Bodensätze nicht fest; sie sind in der gleichen Kultur teils locker, flockig, teils kompakt und dann leichtflüssig, in einzelnen Fällen, wie in Würze + 3 % Dextrose und in Bier nur flockig. Auch bei No. 4 lagen die Absätze nicht fest. In den günstig zusammengesetzten Nährböden waren sie flockig oder gleichmässig auf der Wandung der Kulturkölbchen verteilt. Beim Ausgiessen flossen sie meist leicht, zusammenhängend aus. Die Absätze von No. 7 waren in ähnlicher Weise wie bei No. 3 beschaffen. In den meisten Fällen bestanden sie aus einem kompakten und einem diesen umgebenden lockeren, flockigen Anteil. Die kompakte Masse war schwer oder leichtflüssig. Allzugrosses Gewicht ist auf die verschiedenartige Be-

[1]) a. a. O.

schaffenheit der Bodensätze nicht zu legen, da die Erfahrung gelehrt hat, dass sie nicht konstant ist. Diagnostische Merkmale für die einzelnen Formen aus jener abzuleiten, dürfte daher nicht angängig sein, immerhin erscheint die Beschaffenheit der Absätze zur Charakterisierung des Formenkreises überhaupt im Vergleich zu anderen Gruppen von Sprosspilzen ohne Sporenbildung beachtenswert. Es sei auch hier auf die Mitteilung von Schander[1]) über die verschiedenartige Lagerung und Festigkeit des Trubs (Bodensatz) der von ihm untersuchten Apiculatusformen hingewiesen. Er sagt: „Meist war er schleimig, wenig zusammenhaltend, bei der geringsten Erschütterung der Flasche die über ihm stehende Flüssigkeit trübend oder fest aufliegend, in Klumpen zusammenballend. In einzelnen Fällen zeigte er sich direkt körnig, ähnlich wie bei der zur Champagnerfabrikation dienenden Reinhefe No. 10 Steinberg 1892.

Die vier untersuchten Apiculatusformen entwickelten eine Oberflächenvegetation (Haut).

Der Entwicklungsvorgang der Oberflächenvegetation bietet nichts besonderes dar.

In der Regel entsteht zunächst und zwar sehr frühzeitig (innerhalb der ersten acht Tage) längs des Flüssigkeitsrandes eine grössere oder geringere Zahl kleiner Kolonien, die sich im günstigsten Falle zu einem Ring („Hefenring“) schliessen. Meist unterbleibt aber diese Schliessung; in keinem Fall entwickelt sich der Ring so stark, wie bei den Saccharomyceten und bei der Mehrzahl der Torulaceen; er bleibt meist innerhalb der Grenzen gering bis mässig.

Später treten auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit zerstreut kleine Hautinselchen auf, deren Zahl zunimmt, wobei sie sich immer enger aneinander anschliessen, so dass eine lückenlose Haut entsteht.

Eine Eigentümlichkeit der Entwicklung der Oberflächenvegetation war öfter bei No. 7 zu beobachten, die

[1]) a. a. O.

allerdings auch bei anderen Sprosspilzen vorkommt, immerhin aber beachtenswert erscheint. Die Hautinselchen entstanden nämlich in grösserer Zahl zunächst längs des Flüssigkeitsrandes und erst später über die ganze Flüssigkeitsoberfläche zerstreut. Die Hautbildung ging also vom Hefenring aus.

Haut- und Ringbildung unterblieb bei No. 1 und 3 in Bier, Most, Kartoffel-, Weissrüben-, Weisskrautwasser, in Hefenwasser + 2 % Pepton, in Hefenwasser + 2 % Pepton + 3 % Saccharose und in der Hayduckschen Nährlösung, bei No. 1 auch noch in Gelbrüben- und Hefenwasser + 2 % Pepton + 3 % Dextrose. Sie unterblieb also in einer sehr grossen Anzahl der verwendeten Nährlösungen. Bei allen vier Formen blieb nur Haut- und Ringbildung aus in Peptonlösung + 5 % Maltose mit verschiedenen Mengen verschiedener organischer Säuren.

No. 4 und 7 brachten es dagegen nur in der Hayduckschen Nährlösung, im Hefenwasser + 2 % Pepton und Hefenwasser + 2 % Pepton + 3 % Saccharose, sowie No. 7 in Hefenwasser + 2 % Pepton + 3 % Dextrose nicht zu einer Oberflächenvegetation. Für Nr. 4 und 7 war also nur eine sehr geringe Anzahl von Nährlösungen unter den gegebenen Bedingungen ungünstig. Die Apiculatusform No. 4 unterscheidet sich von No. 1 und 3 ganz wesentlich durch eine frühzeitige und ausgedehnte Hautbildung. Trotzdem die Hautinselchen bei Bewegung der Kulturen zu Boden fallen, so kommt es doch mit Ausnahme der oben bezeichneten Nährlösungen zu einer geschlossenen oder nahezu geschlossenen Haut, die allerdings in den meisten Fällen nur dünn ist. Auf einzelnen Nährlösungen befanden sich jedoch in der dünnen, glatten, grauweissen, schleimig glänzenden Oberflächenvegetation stärkere Hautinselchen eingestreut, an welchen ersichtlich war, wie jene hätte erstarken können, wenn die Möglichkeit zu ungestörter Ausbildung gegeben gewesen wäre.

Entsprechend der Hautbildung war bei No. 4 auch der Hefenring stärker als bei No. 1 und 3. Mit No. 4 stimmt hinsichtlich der Oberflächenvegetation die Apicu-

latusform No. 7 überein. Wenn jene zwar bei dieser Form im allgemeinen nicht den Umfang und die Stärke erreicht wie bei No. 4, offenbar, weil hier die Entwicklung durch zu Boden sinkende Hautinselchen in noch höherem Grade beeinträchtigt wird als bei No. 4, so schliesst sie sich doch mehr an diejenige von No. 4, als an diejenige von No. 1 und 3 an. Während bei diesen eine geschlossene oder nahezu geschlossene Haut nur auf Würze ungehopft + 3 % Dextrose und auf Würze gehopft + 3 % Dextrose zur Ausbildung gelangte, erschien bei No. 7 eine Oberflächenvegetation wie oben ausgeführt, nahezu auf den gleichen Nährlösungen, auf welchen eine solche von No. 4 gebildet wird, ja kam Hautbildung sogar auf der im allgemeinen ungünstigen Nährlösung Hefenwasser + 3% Saccharose zustande, auf welcher sie bei No. 4 fehlte. Dem Umstande, dass die Hautinselchen leicht zu Boden sinken, ist es jedenfalls zuzuschreiben, dass bei No. 7 auf ungehopfter Würze keine ausgedehntere Oberflächenvegetation zustande kommt.

Entsprechend der Hautbildung war auch die Ringbildung bei No. 7 schwächer als bei No. 4; ihr Umfang näherte sich mehr derjenigen von No. 1 und 3. Die Haut war auf den Kulturen von No. 7 sehr dünn, mattgrau, nicht schleimig; die Haut von No. 1 erschien gelblichbraun, diejenige von Nr. 3 grauweiss gefärbt. Die Entwicklung einer Oberflächenvegetation wird wahrscheinlich bei No. 4 und 7 durch die Gegenwart von Alkohol in der Nährlösung gefördert, bei No. 1 und 3 nicht, oder wenigstens nicht in dem Masse, wie bei jenen beiden Formen. Der sichere Nachweis der Assimilierung von Alkohol war durch die gewählte Versuchsanstellung nicht zu erbringen. Fassen wir die aus den Beobachtungen über die Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen Nährflüssigkeit zu ziehenden Schlussfolgerungen zusammen so ergibt sich folgendes:

1) Abstufung des Vermehrungsvermögen; am stärksten ist es unter den gegebenen Bedingungen bei No. 4, dann folgen No. 7, 1 und 3. Ein strikter Beweis liess sich hiefür allerdings nicht erbringen.

2) Abstufung in der Entwicklung einer Oberflächenvegetation; am stärksten ist sie bei No. 4, dann folgen wieder No. 7, 1 und 3.
3) No. 4 und 7 einerseits und No. 1 und 3 andererseits stehen hinsichtlich des Vermehrungsvermögens und der Entwicklung einer Oberflächenvegetation einander näher. Auf Grund der beiden Eigenschaften ergibt sich wieder die gleiche Gruppierung wie bei den Wachstumserscheinungen auf festen Nährböden.

Vermehrungsvermögen in Nährflüssigkeiten und Hautbildung auf diesen geben also diagnostische Merkmale ab.

Die beschriebenen Wachstumserscheinungen wurden vergleichend an einer in sich geschlossenen Versuchsreihe beobachtet. Zur Vervollständigung des Bildes müssen aber auch noch einige in anderen Versuchsreihen beobachtete Erscheinungen hier angeführt werden, da sie zur Charakterisierung der 4 Apiculatushefen beitragen. Es kommen hauptsächlich Kulturen in Peptonlösung + 5% Maltose und verschiedenen Mengen Alkohol, ferner Kulturen in Peptonlösung + 5% Maltose mit verschiedenen Mengen verschiedener organischer Säuren in Frage. Diese beiden Versuchsreihen waren zur Festlegung der Entwicklungshemmung durch Aethylalkohol und durch organische Säuren, ausserdem zur Klärung der Frage, ob Alkohol und organische Säuren durch die 4 Apiculatushefen assimiliert werden, ausgeführt worden. Interessant war in der Versuchsreihe mit Zusatz von Alkohol zur Nährlösung, dass bei den Formen No. 4 und 7, welche sich hinsichtlich der Hautbildung in der ausführlicher beschriebenen Versuchsreihe näher aneinander schlossen, und sich von den Formen No. 1 und 3 unterschieden, diese Ähnlichkeit und Verschiedenheit noch deutlicher hervortrat. In den Kulturen mit Alkoholzusatz und zwar in der Peptonlösung + 5% Maltose und in dem Hefenwasser + 5% Maltose entstand nur bei Apiculatus No. 4 und 7 eine Haut und zwar scheint sich diese auf Kosten des Alkohols entwickelt zu haben. Die Maltose allein, welche von den Apiculatushefen nur in ganz geringer Spur, wie aus der später mitgeteilten

Tabelle ersichtlich, vergoren, dagegen kräftig assimiliert wird, kann nach den vorliegenden Beobachtungen die stärkere Entwicklung der Oberflächenvegetation nicht unterstützt haben, obgleich die Entwicklung der 4 Formen sowohl in Peptonlösung + 5% Maltose und Hefenwasser + 5% Maltose ziemlich kräftig war.

Stärke und Umfang der Oberflächenvegetation stieg bis zu einem Alkoholzusatz von 1,64%. Bei 4,18% blieb jene vollständig aus.

Unsere Beobachtungen, dass durch Alkohol in der Nährlösung die Entwicklung der Oberflächenvegetation überhaupt gefördert wird, fanden nach Abschluss unserer Untersuchungen eine Bestätigung durch Klöcker[1]).

In den Hefenwasserkulturen mit Zusatz verschiedener Zucker ausser Dextrose und Saccharose, welche schon eingehender beschrieben wurden, war das Wachstum bei Gegenwart von Milchzucker und Raffinose ein äusserst geringes, während es bei Gegenwart von Lävulose, Galaktose und Maltose demjenigen in den Kulturen mit Dextrosezusatz gleichkam. In Peptonlösung + 5% Maltose mit verschiedesen Mengen verschiedener organischer Säuren war nur ein Bodensatz vorhanden; Ring- und Hautbildung fehlte.

Fester Nährboden.

A. Form der Einzellkolonien.

Zahlreiche Beobachtungen an den verschiedenen bis jetzt bekannten und auch an den nicht näher bekannten Hefen, überhaupt Sprosspilzarten haben zu dem Schluss geführt, dass deren Wachstumsform in Einzellkulturen bei Verwendung der mannigfachsten festen Nährböden sich auf einige wenige Grundformen zurückführen lässt. H. Will[2])

[1]) Méthode pour reconnaître de petites quantités d'alcool dans les liquides en fermentation et quelques résultats qu'elle a permis d'obtenir. Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg, 10 Vol. 1. livr. 1911. p. 109.

[2]) H. Will, Anleitung zur biologischen Untersuchung u. s. w. S. 83.

unterscheidet deren drei. Der erste Typus umfasst die Kolonien mit regelmässiger (Linsen-, Kugel- oder Halbkugel- oder selbst Zapfenform); der zweite Typus ist dadurch charakterisiert, dass ein mehr oder weniger regelmässiger Kern vorhanden ist, jedoch Sprossverbände über dessen Rand hervorragen. (Platzende Bombe, Polypenform usw.) Die Kolonien des dritten Typus sind völlig unregelmässig.

Die Einzellkulturen wurden folgendermassen hergestellt: 10 % gehopfte sterile Würzegelatine wurde bei einer Temperatur zwischen 35 und 40 ° C verflüssigt und hierauf mit einer kleinen Menge der betreffenden Kultur gut durchgemischt, so dass die Zellen in der verflüssigten Gelatine ziemlich gleichmässig verteilt waren. Von diesem Gemisch wurde mittels einer Platinöse ein kleiner Tropfen auf einem Deckglas in möglichst dünner und gleichmässig flacher Schicht ausgebreitet. Nach dem Erstarren der Gelatine erhielt das Deckglas seinen Platz auf dem Ring einer Böttcherschen feuchten Kammer, auf welchem zur Abdichtung Vaselin aufgetragen war. Die Kultur blieb bei Zimmertemperatur 20 Stunden sich selbst überlassen. Zu Beginn der Sprossung traten dieselben Erscheinungen wie bei den Einzellkulturen in flüssigem Nährboden hervor. Nach 20 Stunden liess sich folgendes feststellen:

No. 1. Die Kolonien sind gut entwickelt und zeigen die erste Grundform. Die Wachstumform im flüssigen Nährboden und im festen stimmt also überein. Die Kolonien sind kugelförmig, die Randlinie im optischen Querschnitt regelmässig und glatt. Nach dem mikroskopischen Bilde sind die Zellen in den Kolonien gleichmässig verteilt und liegen dicht beisammen. Hinsichtlich der Zellform besteht Uebereinstimmung mit denjenigen der Einzellkolonien in flüssigen Nährböden.

Nr. 3. Die Grundform der gut entwickelten Kolonien ist die gleiche wie bei No. 1. Die Kolonien haben mit den in flüssigen Nährböden gewachsenen nur insoferne sehr grosse Ähnlichkeit, als sich dort wie hier

zwischen den einzelnen Zellen grössere Zwischenräume befinden. Ausserdem gewinnt es den Anschein, als ob eine grössere Anzahl von Zellen zu Klumpen vereinigt sei, die von einander durch grössere oder geringere Zwischenräume getrennt sind. Die Verteilung der Elemente in den Kolonien ist also nicht so gleichmässig, wie bei No. 1. Die Form der Kolonien ist rund; die Randlinie verläuft zwar regelmässig, aber nicht mehr so glatt, wie bei No. 1, denn bei genauer Beobachtung sieht man einzelne Zellen über den Rand der Kolonien hervorragen. Die auftretenden Zellformen stimmen mit derjenigen aus den Einzellkulturen in dem flüssigen Nährboden überein.

No. 4. Die Wachstumform stimmt mit derjenigen von No. 1 und 3 überein. Die Kolonien sind gut entwickelt. Sie unterscheiden sich von den Einzellkulturen im flüssigen Nährboden durch ihre gleichmässige, glatte Randlinie, während das Aussehen des Kernes der Kolonien auf festem und flüssigem Nährboden übereinstimmt. Von No. 1 und 3 unterscheidet sich No. 4 durch die kompaktere Beschaffenheit der Kolonien. Riesenzellen fehlen im Gegensatz zu den Kolonien in flüssigem Nährboden, im übrigen besteht hinsichtlich der Zellform Übereinstimmung.

No. 7. Zeigt hinsichtlich der Wachstumsform keine Abweichung von No. 1, 3 und 4. Die Kolonien sind gut entwickelt. Die Kolonien stimmen auch hier wieder mit denjenigen in flüssigem Nährboden überein. Die Dichte der Kolonien steht zwischen derjenigen von No. 3 und 4. Auch hier gewinnt es, wie bei No. 3, den Anschein, als ob sich immer eine grosse Anzahl von Zellen zu einem grösseren Klumpen vereinige. Die Verteilung der Zellen in der Kolonie steht in Übereinstimmung mit derjenigen bei No. 3. Die Zellformen bieten nichts bemerkenswertes.

Die Wachstumsform der Einzellkolonien auf festem Nährboden kann also nicht zur Diagnose der vier Apiculatusformen herangezogen werden. Da alle bisherigen Beobachtungen immer wieder darauf hinweisen, dass hinsichtlich der Zellform zu wenig Unterschiede bestehen,

die Zellform überhaupt im allgemeinen wenig variiert, insbesondere auch gestreckte Zellformen nicht in dem Masse wie bei den Saccharomyceten und bei der zweiten Gruppe der Torulaceen vorkommen, da ferner grössere, verzweigte Sprossverbände nicht zur Ausbildung gelangen, so war dieses Ergebnis vorauszusehen. Immerhin erscheinen die Beobachtungen nicht ganz ohne Wert, insoferne sie zeigen, dass hinsichtlich der Dichte der Kolonien eine Übereinstimmung mit Beobachtungen an den Einzellkolonien in flüssigem Nährboden besteht. Ferner trat übereinstimmend in den Kolonien von No. 4 und No. 7 die ungleichmässige Verteilung der Zellen in den Kolonien hervor, Erscheinungen, die ebenfalls bei der Diagnose nicht ganz vernachlässigt werden dürfen.

B. Riesenkolonien.

Von sehr grosser Bedeutung für die Diagnose von Sprosspilzen sind die Riesenkolonien. Die an diesen auftretenden Wachstumserscheinungen sind sehr charakteristisch und konstant, wenn auch nicht für einzelne Arten, so doch für grössere Gruppen von solchen. Innerhalb der einzelnen Gruppen sind dann häufig wieder, wenn auch nur geringe Abweichungen von dem allgemeinen Charakter zu erkennen, durch welche die Arten oder Varietäten gut zu unterscheiden sind. Unterschiede, welche sich bei Anwendung verschiedener Nährlösungen ergeben, sind in der Regel nur graduell.[1])

Die Riesenkolonien wurden in der üblichen Weise angelegt. In Erlenmeyerkölbchen von ca. 100 ccm Fassungsvermögen, deren Boden mit einer ungefähr 2,5 cm hohen Schicht der festen Nährböden bedeckt war, wurde mittels einer Kapillarröhre ein kleiner Tropfen junger, kräftiger Kulturen auf die Mitte der Gelatineoberfläche gebracht, ohne diese zu verletzen. Die Kulturen wurden in der Mitte eines nach Norden gelegenen Zimmers, wo-

[1]) Will H., Anleitung zur biologischen Untersuchung von Bierwürze usw. München 1909 S. 108.

bei also Einfluss des Sonnenlichtes auf die Riesenkolonien ausgeschlossen war, bei einer Durchschnittstemperatur von 18 ° C aufgestellt. In allen Fällen wurden zwei Riesenkolonien angelegt. Parallelkulturen wurden zu 12 ° und zu 6 ° gebracht.

Nr. 1.

Würzegelatine ungehopft.

Bei 18 ° C bilden die Kolonien nach 14 Tagen einen flachen, ausgebreiteten dünnen Belag von ca. 10 mm Durchmesser. Die zentrale Partie mit glatter Oberfläche ist in schwachem Grade eingesenkt, die auf ihrer Oberfläche im übrigen glatte Randpartie schwach aber deutlich radial gestreift. Auf ihr erscheinen in weiten Abständen einzelne Sektoren stärker entwickelt. Die Randlinie ist nur schwach und wenig gebuchtet; sie verläuft in diesem Falle in flachen Wellenlinien. Anhänge sind auf der Unterseite nicht erkennnbar. Die Farbe der Kolonien ist milchweiss, mattglänzend. Nach sechs Wochen hat der Belag einen Durchmesser von 30 mm erreicht. Der Charakter der Kolonien hat sich kaum verändert, nur dass jetzt deutliche konzentrische Streifung zu beobachten ist. Auch nach drei Monaten sind die Wachstumserscheinungen im wesentlichen die gleichen wie nach 14 Tagen. Ein Unterschied macht sich insofern geltend, als jetzt kleine Anhänge auf der Unterseite der Kolonien zu erkennen sind, d. h. also die Kolonien sind mit einzelnen Büscheln von Zellen in die Gelatine hineingewachsen.[1])

Bei Durchsicht durch dic Kolonien erscheinen diese auf der Unterseite gekörnt. Auf der Seitenansicht sind Anhänge nicht sichtbar.

Nach Abwaschen des Oberflächenbelages durch vorsichtiges Aufspritzen von Wasser mit der Spritzflasche konnte man zahlreiche isolierte Bündel von Zellen beobachten, die in geringen Abständen in konzentrischen Rin-

[1]) Vgl. H. Will, Anleitung S. 111.

gen in die Gelatine hineingewachsen waren. Eine radiale Anordnung zeigten sie nicht.

Die Form der Zellen in den Riesenkolonien ist meist eiförmig, spitzeiförmig und ellipsoidisch; zitronenförmige Zellen sind sehr häufig vertreten. Auch wenige langgestreckte Zellen sind im unteren Teil der zentralen Partie vorhanden, während Riesenzellen nur in den Anhängen vorkommen. Grosse Vakuolen füllen wie gewöhnlich fast den ganzen Binnenraum der Zellen aus und Granula sind bis zu 4 vorhanden. Die Anhänge setzen sich meist aus elliptischen Zellen zusammen, die in der Mitte eine Einschnürung zeigen und weder Vakuolen noch Granula aufweisen.

Die bei 12° und bei 6° gewachsenen Riesenkolonien zeigen keine prinzipiellen Unterschiede gegenüber den bei 18° C herangezogenen, nur ist naturgemäss ihr Wachstum etwas hinter demjenigen der bei 18° C aufgestellten Kulturen zurückgeblieben. Bei den bei 6° C aufgestellten Kulturen erscheint die zentrale Partie umfangreicher als die schärfer ausgeprägte Randpartie.

Würzegelatine ungehopft + 3 % Dextrose.

Die Kulturen unterscheiden sich von denjenigen auf ungehopfter Würzegelatine ohne Zuckerzusatz vor allem durch ihr geringes Flächenwachstum, sie wachsen dagegen etwas mehr in die Höhe. Ihre Flächenausdehnung beträgt nach 14 Tagen ungefähr 5 mm, nach 6 Wochen ca. 15 mm und nach 3 Monaten 27 mm. Die zentrale Partie ist tief eingesenkt, die Randlinie verläuft infolge der unregelmässigen Entwicklung des Belages teilweise mit tieferen Einbuchtungen. Die Randpartie ist radial gestreift und erst nach dreimonatlicher Beobachtung ist schwache konzentrische Streifung sichtbar. Unterhalb der zentralen Partie Anhänge. Der Belag ist schwach gelblich gefärbt, seine Oberfläche schleimig glänzend.

Bei 12° und bei 6° tritt ein Unterschied insoferne hervor, als die tief eingesenkte zentrale Partie von einem hohen Wall umgeben ist. Bei den niederen Temperaturen

fehlt konzentrische Streifung. Bei der bei 6° herangewachsenen Kolonie ist die zentrale Partie ebenfalls umfangreicher als die scharf abgesetzte Randpartie. Die Zellen sind in der zentralen Partie hauptsächlich langgestreckt; auch zitronenförmige Zellen sind noch häufig vorhanden, während eiförmige und ovale Zellen der Zahl nach zurücktreten. In der Randpartie, als dem jüngsten Zuwachs, herrscht die Zitronenform vor, während ovale und runde Formen in der Minderheit sind. Das Plasma mit bis zu drei Granula ist wie immer durch grosse Vakuolen reduziert. Die durchschnittliche Grösse der Zellen ist 4,1 μ.

Würzegelatine ungehopft +3% Saccharose.

Die bei 18° aufgestellten Kolonien haben sehr viel Ähnlichkeit mit jenen auf Würzegelatine ungehopft +3% Dextrose. Die Entwicklung ist noch geringer als bei jenen. Auch bei 12° und 6° sind keine Unterschiede vorhanden.

Würzegelatine gehopft.

Im Vergleich zu Würzegelatine ungehopft sind die Kolonien bei 18° gering entwickelt. Nach 14 Tagen besitzen sie einen Durchmesser von nur ca. 4 mm. Die Hopfung der Würze scheint also anfangs die Entwicklung zurückgehalten zu haben. Die Kolonien sind unregelmässig entwickelt, insofern, als an der Randpartie einzelne Sektoren stromartig vorgezogen erscheinen. Nach weiteren vier Wochen beträgt der Durchmesser ungefähr 20 mm. Gegenüber den Riesenkolonien auf Würzegelatine ungehopft besteht jetzt insofern ein Unterschied, als die tiefer eingesenkte zentrale Partie einen grösseren Umfang aufweist. Ausserdem ist sie durch eine schwach gelbweisse Färbung von der schmalen stromartig ausgebildeten Randpartie, die glasig und milchig weiss gefärbt erscheint, deutlich verschieden. Mit der Lupe erkennt man auf der Unterseite der Kolonien unterhalb der zentralen Partie Anhänge.

Nach weiteren sechs Wochen besass die Kultur einen Durchmesser von ca. 37 mm, im übrigen war sie im gleichen

Sinn wie früher weiter gewachsen. Die Wachstumserscheinungen bei 12° sind mit ganz geringen Unterschieden die gleichen, wie bei 18°. Ein Unterschied macht sich dahin geltend, dass auf der Randpartie deutliche radiale Streifung sichtbar ist. Ferner ist die zentrale Partie eingesenkt und von einem Wall umgeben.

Auch die bei 6° aufgestellten Kolonien zeigen keine prinzipiellen Unterschiede, nur ist das Wachstum ein weniger lebhaftes. Die Kolonien wachsen mehr in die Höhe und zeigen deutliche radiale konzentrische Streifung. Zitronenförmige Zellen sind verhältnismässig wenig vorhanden, dagegen herrschen eiförmige und ovale Zellen in der zentralen Partie vor. Auch nadelförmige und einige langgestreckte Zellen mit deutlich erkennbaren Spitzchen sind vorhanden. In der Regel sind 2, seltener 1, 3 und 4 Granula in Zellen, welche meist grössere Vacuolen erfüllen, vorhanden.

Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose.

Die Kolonien haben nach 14 Tagen fast das gleiche Aussehen wie die Kulturen auf Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose. Nur durch ihr geringes Wachstum unterscheiden sie sich von jenen. Ihr Durchmesser beträgt ca. 4 mm. Nach weiteren vier Wochen lässt sich, wenn man die Riesenkolonien von der Unterseite betrachtet, an der Randpartie eine stromartige Ausbildung mit radialer Streifung erkennen. Die Kolonien besitzen einen Durchmesser von 7 und 9 mm und nach sechs Wochen einen solchen von 11 und 27 mm. Die bei 12° aufgestellten Kulturen unterscheiden sich von den bei 18° aufgestellten nur durch ein etwas geringeres Wachstum. Bei 6° sind die Kolonien noch kleiner; sie sind in der Mitte nicht eingesenkt, sondern wachsen gegen die Mitte mehr und mehr in die Höhe, erscheinen also mehr oder weniger gewölbt. Die schmale Randpartie ist radial gestreift; die Randlinie verläuft regelmässig. Oberfläche der Kolonien mattglänzend. Vorherrschende Zellform in allen Teilen der Kolonien ist die langgestreckte mit oder

ohne Zuspitzung an den Enden. Zitronenförmige, eiförmige und ovale Zellen sind noch häufig vertreten.

Würzegelatine gehopft + 3 % Saccharose.

Die bei 18° aufgestellten Riesenkolonien auf diesem Nährboden unterscheiden sich von denjenigen auf Würzegelatine gehopft + 3 % Dextrose fast gar nicht. Die zentrale Partie erscheint gehoben, die Randpartie schwach radial gestreift. Die Randlinie verläuft im allgemeinen schwach gebuchtet. Oberfläche mattglänzend, grauweiss. Bei 12° ist das Wachstum das gleiche wie bei 18°, nur tritt radiale Streifung deutlicher hervor.

Bei 6° machen sich wieder die gleichen Erscheinungen wie auf dem vorhergehenden Nährboden geltend, indem die Kolonien mehr in die Höhe wachsen und deutliche radiale sowie konzentrische Streifung aufweisen.

Kartoffelwassergelatine.

Obwohl die Kolonien im allgemeinen besser als auf den vorhergehenden Nährböden entwickelt sind, bleibt ihr Wachstum immerhin hinter demjenigen auf Würzegelatine ungehopft zurück. Der Durchmesser beträgt nach 14 Tagen 3 und 6 mm. Der Belag ist verhältnismässig flach und die zentrale Partie schwach eingesenkt. Die Randlinie ist ziemlich regelmässig und nur schwach gebuchtet. Die Oberfläche der Kulturen ist glatt, ziemlich trocken, wachsartig und mattglänzend. Nach sechs Wochen betrug der Durchmesser 6 und 8 mm. Etwa nach der letzten Beobachtung aufgetretene Unterscheidungsmerkmale sind nicht mehr zu erkennen, da die Kulturen bereits verflüssigt sind. Ein so geringes Wachstum trat jedoch nicht in allen Versuchsreihen auf. In einer anderen hatten die Riesenkolonien innerhalb fünf Wochen einen Duchmesser von teilweise mehr als dem Doppelten, erreicht. Einzelne Sektoren waren in diesem Falle stärker entwickelt, radiale und konzentrische Streifung war erkennbar. In einer Versuchsreihe wurden Kolonien drei Monate lang beobachtet. In diesem Falle zeigten die flach ausgebreiteten

Kolonien eine schärfer ausgeprägte radiale Streifung in weiten Abständen. Die konzentrische Streifung war verschwunden. Im Vertikalschnitt erschien der obere Rand des Belages flach wellenförmig, was auf Zonenbildung hindeutet. Die Randlinie war scharf und kurz gebuchtet. Auf der Unterseite der Riesenkolonien waren Auswüchse in die Gelatine teils nur unterhalb der zentralen, schärfer abgegrenzten Partie, teils auch unterhalb einzelner Sektoren durch die Kulturen zu erkennen. Sie erstreckten sich hier bis an den Rand der Kolonie. Farbe der Riesenkolonien grauweiss, glasig; Oberfläche schleimig glänzend, Gelatine nicht verflüssigt. Die bei 12 ° C aufgestellten Kulturen unterscheiden sich von den bei 18 ° aufgestellten nicht, abgesehen davon, dass sie bei der niedrigen Temperatur nicht so rasch verflüssigen. Nach drei Monaten sind auf der Unterseite der Kolonien Anhänge sichtbar. Auch bei 6 ° sind keine Unterschiede bemerkbar, nur dass die zentrale Partie tief eingesenkt ist.

Gelbrübenwassergelatine.

Die Kolonien gleichen bei 18 ° in Form und Farbe den Kolonien auf gehopfter Würzegelatine; sie sind jedoch regelmässiger und mehr in die Höhe gewachsen. Durchmesser beträgt nach zwei Wochen 3 mm, nach sechs Wochen 7 und 8 mm. Der schleimig glänzende Belag zeigt auf der Oberfläche nichts charakteristisches, während er, wenn man ihn von der Unterseite betrachtet, radiale Streifung und stromartige Ausbildung erkennen lässt. Nach drei Monaten trat Verflüssigung der Gelatine ein, ohne dass bis dahin noch besondere Wachstumserscheinungen aufgetreten wären. Bei 12 ° zeigen die Riesenkolonien keinen anderen Unterschied, als dass nach drei Monaten die Kolonien tief eingesenkt sind. Ferner tritt schwache radiale Streifung und eine schwach gebuchtete Randlinie auf. Vorherrschend sind ovale, eiförmige und runde Zellen; zitronenförmige Zellen erscheinen dagegen mehr zurückgedrängt. Auch viele nadelförmige Zellen treten auf. Es lässt dies darauf schliessen, dass die Er-

nährungsbedingungen auf Gelbrübenwassergelatine nicht so günstig wie auf Würzegelatine sind. Die Zellen enthalten meist zwei, seltener ein oder drei Granula.

Weissrübenwassergelatine.

Nach 14tägigem Stehen bei 18° sind die Kolonien noch sehr wenig entwickelt, (Durchmesser 2 und 3 mm) während sie nach weiteren vier Wochen (Durchmesser 4 und 6 mm) schon beginnende Verflüssigung zeigen. Die bei 12° während drei Monate gewachsenen Kolonien sind in der Mitte eingesenkt, und die Einsenkung ist von einem Wall umgeben. Die Randpartie zeigt deutlich radiale Streifung und stromartige Ausbildung, während die Randlinie in flachen Wellenlinien verläuft. Auf der Unterseite sind Anhänge sichtbar und zwar hauptsächlich unterhalb der zentralen Partie. Bei dieser Temperatur tritt die Verflüssigung erst nach ungefähr drei Monaten ein. Vorherrschende Zellformen sind eiförmige und ovale, die sowohl in der Randpartie als auch in der zentralen Partie vorkommen; zitronenförmige und nur an einem Ende zugespitzte Zellen kommen nur wenig vor. Die grossen Vacuolen füllen fast den ganzen Binnenraum der Zellen aus; Granula sind meist in der Zweizahl vorhanden und an den beiden entgegengesetzten Enden der Zellen eingelagert. Sie kommen auch in der Ein-, Drei- und Vierzahl vor. Die durchschnittliche Grösse der Zellen ist 3,9 μ.

Bei 6° wachsen die Kolonien mehr in die Höhe und die zentrale Partie besitzt einen grösseren Umfang als die Randpartie, die konzentrisch gestreift ist. Die Randlinie verläuft regelmässig.

Weisskrautwassergelatine.

Der Charakter der Riesenkolonien, der bei 18° aufgestellten Kulturen ist der gleiche wie bei Weissrübenwassergelatine (Durchmesser 3 mm), nur dass die Verflüssigung erst nach ungefähr drei Monaten eintritt.

Hier finden sich weniger zitronenförmige, dagegen hauptsächlich an einem Ende zugespitzte Zellen. Grosse Vacuolen füllen fast die Zellen aus; Granula sind meist ein oder zwei vorhanden; durchschnittliche Grösse ist 4,4 μ.

Bei 12° ist das Wachstum etwas geringer als bei 18°; auch ist die radiale Streifung nicht so deutlich. Im übrigen stimmen sie mit den bei 18° aufgestellten Kulturen überein. Bei 6° ist ein starkes Höhenwachstum zu beobachten. Die zentrale Partie ist in der Mitte wieder tief eingesenkt. Wallbildung ist nicht zu beobachten. Die Randpartie ist schmal und deutlich radial sowie konzentrisch gestreift. Anhänge wachsen in die Gelatine hinein.

Mostgelatine.

Das Wachstum auf Mostgelatine bei 18° ist ein sehr mässiges (Durchmesser 5 mm). Nach drei Monaten haben die Kolonien einen Durchmesser von ca. 13 mm. Die zentrale Partie ist eingesenkt und von mattgrauer Farbe. Auf der Oberfläche der Randpartie zeigen sich zahlreiche weisse Erhebungen. Die Randlinie ist anfangs sehr regelmässig, verläuft aber später in flachen Wellenlinien. Auf der Unterseite sind Anhänge sichtbar und zwar hauptsächlich unterhalb der zentralen Partie.

Die hauptsächlich auftretende Zellform ist die zitronenförmige. Aber auch ovale und runde Zellen kommen sehr häufig vor. Langgestreckte Zellen fehlen. Die Durchschnittsgrösse der Zelle ist 3,9 μ. Bei 12° bleibt das Wachstum wie gewöhnlich etwas hinter dem bei 18° zurück; im übrigen traten aber dieselben Erscheinungen auf. Ebenso ist es bei 6°, wo das Wachstum noch etwas mehr zurückbleibt. Das Aussehen der Kolonien zeigt aber nichts neues.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Der Durchmesser der bei 18° aufgestellten Kolonien beträgt nach 14 Tagen 3 mm, nach weiteren vier Wochen 9 mm. Die Kolonien sind mehr oder weniger gewölbt

und die zentrale Partie ist eingesenkt. Die Randpartie zeigt deutlich radiale Streifung. Die Randlinie ist sehr regelmässig. Auf der Unterseite der Kolonien sind Anhänge gleichmässig verteilt. Nach drei Monaten sind die Kolonien tief eingesenkt und stark verflüssigt.

Bei 12° zeigt sich mit Ausnahme eines etwas geringeren Wachstums kein Unterschied von den bei 18° aufgestellten Kulturen.

Bei 6° sind keine prinzipiellen Unterschiede wahrzunehmen. Während anfänglich die zentrale Partie eingesenkt war, liegt sie nach drei Monaten höher als die Randpartie. Die Kolonie ist also mehr in die Höhe als in die Breite gewachsen. Zellform meist oval oder eiförmig; die Zitronenform ist seltener. Granula sind in der Ein-, Zwei- und Dreizahl vorhanden.

Hefenwassergelatine +3% Saccharose.

Die Kolonien bei 18° sind nach 14 Tagen noch so klein (Durchmesser 3 und 4 mm), dass nichts charakteristisches zu beobachten ist, während sie vier Wochen später etwas mehr ausgeprägt erscheinen (Durchmesser 6 mm). Sie sind vom Rand nach der Mitte zu etwas in die Höhe gewachsen, während die zentrale Partie selbst eingesenkt ist. Die Randpartie ist radial gestreift, die Randlinie regelmässig. Auf der Unterseite sind Anhänge sichtbar. Nach drei Monaten hat sich das Aussehen der Kultur nicht verändert.

Bei 12° sind die Wachstumserscheinungen die gleichen wie bei 18°, nur dass das Wachstum etwas geringer ist.

Auch bei 6° ist kein wesentlicher Unterschied mit Ausnahme einer konzentrischen Streifung zu beobachten.

Nr. 3.

Die Kulturen von Nr. 3 unterscheiden sich schon beim allgemeinen Überblick von No. 1 dadurch, dass sie auf festen Nährböden besser entwickelt sind.

Würzegelatine ungehopft.

Die Kolonien bei 18° zeigen hauptsächlich einen flach ausgebreiteten Belag wie No. 1 und haben einen Durchmesser von 8 und 10 mm; jedoch zeigt dieser Belag schon nach 14 Tagen ein schärferes Gepräge wie bei No. 1. Die schwach eingesenkte zentrale, durch einen niederen Wall begrenzte Partie ist auf der Oberfläche uneben, während die Randpartie durch eine deutliche, dichte, radiale und konzentrische Streifung gekennzeichnet ist. Die Randlinie ist wenig gebuchtet und verläuft in flachen Wellenlinien. Die Kolonien sind grauweiss und besitzen matten Glanz. Nach vier Wochen ist der Charakter im allgemeinen der gleiche wie nach 14 Tagen, nur dass jetzt einzelne Sektoren schärfer hervortreten, wodurch die radiale Streifung noch deutlicher wird. Die Randlinie ist infolge stärkerer Entwicklung einzelner Sektoren, die über die Randlinie hervorgezogen erscheinen, an einzelnen Stellen unregelmässiger. Auf der Unterseite sind Anhänge sichtbar und zwar stehen sie unterhalb der zentralen Partie am dichtesten. Nach weiteren sechs Wochen hat sich der Charakter der Kolonien nicht verändert, nur tritt die konzentrische Streifung noch deutlicher hervor.

Die am meisten auftretende Zellform ist die ovale und runde, während die Zitronenform etwas zurückgedrängt erscheint. Längliche und Riesenzellen kommen nur vereinzelt in der zentralen Partie vor. Granula sind nur sehr wenige vorhanden und Vacuolen nur in den zitronenförmigen Zellen deutlicher sichtbar, mit Ausnahme weniger runder und ovaler Zellen. Durchschnittliche Grösse der Zelle 3,9 μ. Bei 12° zeigen die Kolonien den gleichen Charakter wie bei 18°, nur dass sie in ihrer Entwicklung ein wenig zurückbleiben.

Die bei 6° aufgestellten Kulturen besitzen die gleichen Eigenschaften wie die bei 18° aufgestellten. Bei dieser Temperatur ist die zentrale Partie scharf abgegrenzt und nicht eingesenkt. Die Randpartie ist deutlich konzentrisch

und weniger stark radial gestreift, die Randlinie fast regelmässig, nur wo Strombildung vorhanden, unregelmässig.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Nach 14 Tagen gleichen die bei 18° aufgestellten Kolonien im allgemeinen denjenigen auf ungehopfter Würzegelatine (Durchmesser 9 mm), mit Ausnahme der wenig scharf ausgeprägten radialen und konzentrischen Streifung. Der Dextrosezusatz scheint also das Wachstum nicht besonders gefördert zu haben. Nach vier Wochen stimmen die Kolonien im allgemeinen mit denen von No. 1 überein, nur dass die Randlinie regelmässiger ist und die einzelnen Sektoren nicht so scharf hervortreten. Nach nochmaligem sechswöchentlichen Stehenlassen hat sich das Bild der Kolonien nicht verändert. Die vorherrschende Zellform ist die ovale, etwas weniger häufig ist die runde und längliche, auch kommen noch sehr viele zitronenförmige Zellen vor. Langgestreckte Zellen fehlen. Vacuolen treten in zitronenförmigen Zellen regelmässig auf, während sie in ovalen und runden Zellen häufig fehlen. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 3,7 μ.

Bei 12° zeigen die Kolonien Erhebungen auf der Oberfläche. Im übrigen stimmen sie mit den bei 18° gewachsenen überein, während sie bei 6° sich durch das Fehlen der Erhebungen in der zentralen Partie unterscheiden.

Würzegelatine ungehopft + 3% Saccharose.

Die Kulturen, die bei 18° aufgestellt sind, stimmen fast genau mit den auf ungehopfter Würzegelatine überein, bleiben aber in der Entwicklung weiter hinter jenen zurück (Durchmesser 6 und 7 mm), so dass also der Zuckerzusatz nicht nur indifferent, sondern für das Wachstum hinderlich erscheint. Nach 6 Wochen ist der Charakter der Kolonien noch der gleiche, während nach 3 Monaten bereits beginnende Verflüssigung der Gelatine zu beobachten ist. Anhänge sind nicht vorhanden. Die Form der Zellen auf diesem Nährboden ist die gleiche, wie auf ungehopfter Würzegelatine.

Bei 12° ist das Wachstum genau wie bei 18°, nur dass die Ausdehnung des Oberflächenbelages nicht so weit ist als dort.

Auch bei 6° sind die Kolonien jenen bei 18° gleich, nur dass sie wieder in ihrem Wachstum hinter jenem zurückbleiben.

Würzegelatine gehopft.

Im Vergleich zur Würzegelatine ungehopft bleiben die bei 18° aufgestellten Kolonien in ihrer Entwicklung weit hinter jenen zurück (Durchmesser 5 und 6), was auch schon bei No. 1 zu beobachten war. Im Vergleich zu ungehopfter Würzegelatine wachsen die Kolonien hier mehr in die Höhe. Die zentrale Partie ist tief eingesenkt und durch einen Wall von der Randpartie scharf abgegrenzt. Die Randpartie ist deutlich radial gestreift; einzelne Sektoren sind stärker entwickelt. Nach 6 Wochen ist der Charakter der Kolonien noch der gleiche. Die Oberfläche ist schleimig glänzend. Von der Unterseite betrachtet, erscheinen die Kolonien in einzelne Sektoren von verschiedener Länge und Stärke zerlegt, was den unregelmässigen Verlauf der Randlinie zur Folge hat. Auf der Unterseite sind Anhänge vorhanden, die gleichmässig verteilt sind. Nach weiteren sechs Wochen ist der Charakter immer noch der gleiche; es tritt bereits Verflüssigung ein.

Bei 12° ist der Charakter fast noch der gleiche wie bei 18°, nur dass die Randpartie schwach radial und konzentrisch gestreift erscheint und in der zentralen Partie die Erhebungen fehlen. Auf der Unterseite sind Anhänge in gleichmässiger Verteilung sichtbar.

Bei 6° zeigen die Kolonien ähnlichen Charakter wie bei 18°, nur dass sie mehr in die Höhe wachsen und die Randpartie deutlicher radial sowie konzentrisch gestreift ist. Die Randlinie ist sehr regelmässig. Auch Anhänge sind auf der Unterseite sichtbar. Vorherrschend sind runde, ovale und eiförmige Zellen; zitronenförmige Zellen treten auch noch sehr häufig auf, ebenso dünne,

nadelförmige, und zwar kommen diese Zellformen in allen Teilen der Kolonien vor. Die Zellen enthalten grosse Vacuolen und meist zwei, häufig auch ein und drei Granula. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 4,4 μ.

Würzegelatine gehopft + 3 % Dextrose.

Die bei 18° aufgestellten Kulturen zeigen dieselben Wachstumserscheinungen wie auf Würzegelatine gehopft, unterscheiden sich also von diesen nicht (Durchmesser 6 und 7 mm). Also auch hier scheint der Dextrosezusatz keine besondere Wirkung ausgeübt zu haben.

Auch bei 12° und bei 6° unterschieden sich die Kolonien von jenen auf Würzegelatine gehopft nicht. Während in der Randpartie vorherrschend ovale und runde Zellen sind, treten in der zentralen Partie mehr kleine runde Zellen in den Vordergrund. Langgestreckte Zellen fehlen, überall sind aber noch die zitronenförmigen Zellen häufig. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 3,5 μ.

Würzegelatine gehopft + 3 % Saccharose.

Die Kolonien zeigen, bei 18° aufgestellt, die gleichen Wachstumserscheinungen wie auf Würzegelatine ungehopft + 3 % Saccharose; sie bleiben jedoch in ihrem Flächenwachstum hinter jenen zurück (Durchmesser 4 mm). Saccharosezusatz scheint hinderlich zu sein, denn der Durchmesser der Kolonien ist kleiner als auf Würzegelatine gehopft mit und ohne Zusatz von Dextrose. Anhänge sind nicht zu beobachten.

Bei 12° wachsen die Kolonien wie bei 18°, bei 6° ähnlich wie diejenigen auf Würzegelatine ungehopft, nur ist hier deutliche konzentrische Streifung zu sehen.

Kartoffelwassergelatine.

Die bei 18° aufgestellten Kolonien sind nach 14 Tagen noch sehr wenig entwickelt (Durchmesser 4 und 6 mm). Die zentrale Partie, deren Oberfläche mattgrau gefärbt erscheint, ist eingesenkt und von einem niederen Wall umschlossen. Die schmale Randpartie ist deutlich radial

und konzentrisch gestreift, gelblichweiss und mattglänzend. Nach sechs Wochen sind die Charaktere der Kolonien auf der Oberfläche nicht mehr so scharf ausgeprägt, dagegen ist bei der Durchsicht von unten deutlich erkennbar, dass einzelne Sektoren stärker entwickelt sind und ausserdem tritt radiale Streifung hervor. Am Rand der zentraten Partie sind die Anhänge viel stärker als sonst in der Kolonie. Die Randlinie ist sehr regelmässig. Die Kolonien haben ein schleimig glänzendes Aussehen. Nach weiteren sechs Wochen ist bereits beginnende Verflüssigung zu sehen. Bei 12° treten die gleichen Erscheinungen auf wie bei 18°, nur dass hier die zentrale Partie sehr weit ausgedehnt erscheint. Sie ist von einem niederen Wall umgeben und hieran schliesst sich die Randpartie, die deutlich radial und schwach konzentrisch gestreift ist. Bei 6° hat sich die zentrale Partie scharf abgesetzt, während die Randpartie schwach radial und deutlich konzentrisch gestreift ist. Die Randlinie verläuft fast regelmässig. Auch sind alle hier in Betracht kommenden Zellformen in ungefähr gleicher Verteilung vorhanden. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 3,6 μ.

Gelbrübenwassergelatine.

Die Kulturen, die bei 18° aufgestellt sind, zeigen nach 14 Tagen den gleichen Charakter, wie jene auf Würzegelatine ungehopft (Durchmesser 4 und 6 mm). Die zentrale Partie ist also schwach eingesenkt und von einem niederen Wall umgeben. Die Oberfläche ist uneben und die Randpartie deutlich radial und schwach konzentrisch gestreift. Die Randlinie verläuft unregelmässig und ist teilweise tief eingebuchtet. Anhänge scheinen vorhanden zu sein und zwar hauptsächlich unterhalb des Walles. Die Kolonien sind gelblichweiss bis milchigweiss glänzend. Nach weiteren vier Wochen ist die Gelatine unterhalb beider Kolonien stark verflüssigt. Nach dem Abfliessen des Oberflächenbelages sind die Anhänge noch deutlich sichtbar. Während in der zentralen Partie zitronenförmige und an einem Ende zugespitzte Zellen vorherrschen, über-

wiegen in der Randpartie eiförmige und ovale. Langgestreckte Zellen finden sich nur in geringerer Zahl in der zentralen Partie. Durchschnittliche Grösse der Zellen ist 4,4 μ.

Bei 12° wachsen die Kolonien ähnlich wie bei 18°; nur dass sich die zentrale Partie stark über die Randpartie erhebt und selbst nach jener zu wieder schwach eingesenkt ist. Die zentrale Partie ist also von einem Wall umgeben. Die Randpartie ist radial gestreift, die Randlinie ziemlich unregelmässig.

Bei 6° sind fast keine Unterschiede vorhanden, nur dass das Wachstum ein geringes und die Randpartie schwach radial und konzentrisch gestreift ist.

Weissrübenwassergelatine.

Nach 14 Tagen sind die Kolonien noch sehr wenig entwickelt (Durchmesser 4 mm). Die zentrale Partie ist eingesenkt und deutlich radial gestreift. Nach sechs Wochen (Durchmesser 5 und 6 mm) sind die Kolonien teilweise verflüssigt. Anhänge waren nicht zu beobachten.

Die Mehrzahl der Zellen ist zitronenförmig oder an einem Ende zugespitzt. Rundliche, eiförmige oder ovale Zellen sind in der Minderzahl vorhanden. Langgestreckte Zellen fehlen. Die bei 12° aufgestellten Kulturen unterscheiden sich von den bei 18° gehaltenen. Die zentrale Partie ist von einem hohen Wall umgeben. Die Randpartie ist schwach radial gestreift und die Randlinie durch Strombildung unregelmässig, Anhänge sind vorhanden; sie sind gleichmässig verteilt. Nach drei Monaten tritt Verflüssigung ein.

Weisskrautwassergelatine.

Nach 14 Tagen sind die bei 18° aufgestellten Kolonien noch wenig entwickelt (Durchmesser 3 und 4 mm), nach sechs Wochen ist bereits Verflüssigung eingetreten. Bei Durchsicht von unten ist noch deutlich eine radiale Anordnung innerhalb der Kolonien sichtbar. Sowohl in der Randpartie, als auch in der zentralen Partie ist die

vorherrschende Zellform die Zitronenform. Auch treten häufig an einem Ende zugespitzte, runde, eiförmige und ovale Zellen auf. Langgestreckte Zellen fehlen. In der zentralen Partie ist die Grösse der Zellen 4,8 μ, in der Randpartie 3,9 μ.

Bei 12° ist das Wachstum wie bei 18°, jedoch ist nach drei Monaten die zentrale Partie stark in die Höhe gewachsen und die Randpartie deutlich radial gestreift. Die Randlinie ist sehr unregelmässig. Anhänge sind vorhanden und gleichmässig über die Gelatine verteilt.

Bei 6° wachsen die Kolonien stark in die Höhe. Die zentrale Partie ist von einem Wall umgeben, die Randpartie deutlich radial und schwach konzentrisch gestreift. Die Randlinie ist schwach gebuchtet. Die vorhandenen Anhänge sind konzentrisch gelagert.

Mostgelatine.

Das Wachstum bei 18° ist nach 14 Tagen mässig (Durchmesser 5 mm). Die zentrale Partie ist schwach eingesenkt und von brauner Farbe, während die Randpartie mit zahlreichen weisslichen Erhebungen besät erscheint. Die Oberfläche ist körnig, die Randlinie ist ziemlich regelmässig. Auf der Unterseite sind Anhänge sichtbar und zwar am dichtesten unterhalb der zentralen Partie. Nach weiteren vier Wochen ist fast keine Änderung im Aussehen der Kolonien eingetreten. Nach drei Monaten sind die Wachstumserscheinungen noch etwas deutlicher ausgeprägt, indem die Randpartie bis ungefähr ein Drittel zur zentralen Partie mit zahlreichen weissen Erhebungen bedeckt ist. Der äussere Teil der Randpartie ist mattgrau. Die vorherrschende Zellform ist die zitronenförmige, aber auch runde und ovale Zellen kommen noch sehr häufig vor. Die durchschnittliche Zellgrösse beträgt 4,3 μ.

Bei 12° ist das Wachstum das gleiche wie bei 18°, nur dass die Kolonien etwas mehr in die Höhe wachsen. Bei 6° wachsen die Kolonien stark in die Höhe; die Randpartie ist radial gestreift und die Randlinie fast regelmässig.

Hefenwassergelatine + 3 % Dextrose.

Die bei 18° aufgestellten Kulturen sind nach 14 Tagen noch wenig entwickelt (Durchmesser 4 mm). Die zentrale Partie ist eingesenkt, die Randpartie deutlich radial und konzentrisch gestreift. Anhänge sind nicht vorhanden. Nach weiteren vier Wochen ist bei beiden Kolonien Verflüssigung eingetreten. Zitronenförmige und an einem Ende zugespitzte Zellen finden sich zwar sehr häufig, jedoch ist die vorherrschende Zellform die runde, eiförmige und ovale. Langgestreckte Zellen fehlen. Durchschnittsgrösse der Zelle 4,2 μ.

Bei 12° ist das Wachstum fast das gleiche wie bei 18°, nur dass die Kolonien nicht mehr so flach wachsen. Bei 6° wächst die zentrale Partie mehr in die Höhe und die Randpartie ist schwach radial und konzentrisch gestreift. Die Randlinie ist ziemlich regelmässig. Auf der Unterseite sind Anhänge sichtbar.

Hefenwassergelatine + 3 % Saccharose.

Die bei 18° aufgestellten Kolonien unterscheiden sich nur graduell von denjenigen von No. 1 (Durchmesser 3 und 4 mm). Nach drei Monaten tritt Verflüssigung ein. Grossenteils treten zitronenförmige und an einem Ende zugespitzte Zellen auf, häufig auch runde, ovale und sehr viele kleine runde. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 4 μ.

Bei 12° ist das Wachstum das gleiche wie bei 18°. Bei 6° wachsen die Kolonien in die Höhe. Die zentrale Partie ist eingesenkt, die Randpartie radial und konzentrisch gestreift.

No. 4.

Würzegelatine ungehopft.

Die bei 18° aufgestellten Kolonien sind nach 14 Tagen gut entwickelt (Durchmesser 8 und 9 mm). Sie lassen die schon früher beobachtete Erscheinung der schalenförmigen Vertiefung erkennen. Die zentrale Partie ist von einem niederen Wall umgeben und ihre Oberfläche

uneben. Die Randpartie ist deutlich radial gestreift. Die Randlinie verläuft ziemlich unregelmässig und ist zum Teil tief gebuchtet. Die Kolonien sind mattglänzend und grauweiss. Nach weiteren vier Wochen ist bereits in beiden Kulturen die Gelatine unterhalb der zentralen Partie verflüssigt; der Oberflächenbelag der Riesenkolonien gleitet von der Unterlage als zusammenhängende Masse ab. Die Randpartie zeigt in der äusseren Zone radiale Streifung. Die vorherrschende Zellform ist die zitronenförmige und die an einem Ende zugespitzte, runde und ovale Zellen treten in den Hintergrund. Dagegen kommen langgestreckte Zellen bis zu 27 μ Länge im oberen Teil der zentralen Partie vor. Die durchschnittliche Länge der Zelle ist 6,4 μ. Die nahezu in allen Zellen auftretenden Vacuolen füllen fast den ganzen Binnenraum der Zellen aus. Granula treten meist in der Ein- und Zweizahl auf. Seltener sind drei Granula in einer Zelle.

Bei 12° zeigen sich keine Unterschiede gegenüber den bei 18° aufgestellten Kulturen. Auch hier ist die Gelatine unterhalb der Kolonien schon nach sechs Wochen verflüssigt.

Bei 6° ist die zentrale Partie weit ausgedehnt und gehoben. Die Randpartie ist schwach radial und deutlich konzentrisch gestreift. Die Randlinie ist mit Ausnahme weniger Einbuchtungen regelmässig.

Würzegelatine ungehopft + 3 % Dextrose.

Die bei 18° aufgestellten Kolonien sind besser als auf den vorhergehenden Nährflüssigkeiten entwickelt (nach 14 Tagen 10 und 11 mm). Hier macht sich ein günstiger Einfluss des Dextrosegehaltes geltend. Der Charakter ist der gleiche wie auf Würzegelatine ungehopft, jedoch noch schärfer ausgeprägt. Auf der Unterseite sind Anhänge unterhalb des Walles sichtbar. Die Randlinie verläuft unregelmässig. Die Farbe ist grauweiss und der Glanz ist etwas stärker als bei Würzegelatine ungehopft. Nach weiteren vier Wochen ist die Verflüssigung der Gelatine schon weit vorgeschritten. Am häufigsten treten

zitronenförmige und langgestreckte Zellen auf; auch sehr viele kleine runde Zellen von ungefähr 1 μ Grösse sind vorhanden, dagegen treten eiförmige und ovale Zellen in den Hintergrund. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 6,4 μ. Bei 12° ist kein Unterschied gegenüber den bei 18° aufgestellten Kulturen zu sehen. Auch hier ist nach sechs Wochen schon sehr starke Verflüssigung zu beobachten. Bei 6° ist das Wachstum wie auf dem vorhergehendem Nährboden, nur dass hier Anhänge zu beobachten sind.

Würzegelatine ungehopft + 3 % Saccharose.

Es sind hier sowohl bei 18° als auch bei 12° dieselben Erscheinungen des Wachstums wie auf Würzegelatine ungehopft zu beobachten, nur ist jenes etwas geringer (Durchmesser nach 14 Tagen 7 mm).

Bei 6° ist das Wachstum ein anderes als wie bei 18°. Die zentrale Partie ist nicht gehoben wie bei Würzegelatine ungehopft, sondern schalenförmig vertieft; Farbe gelblichweiss. Hieran schliesst sich eine Zone von der gleichen Farbe und mit radialer Streifung; hierauf folgt die äussere Randpartie mit mattgrauer Farbe und konzentrischer Streifung. Die Randlinie verläuft in flachen Wellenlinien. Was die Zellform betrifft, so treten hier die gleichen Zellformen wie auf Würzegelatine ungehopft auf.

Würzegelatine gehopft.

Wie bei No. 1 und 3 ist zu beobachten, dass das Wachstum bei 18° bedeutend geringer (Durchmesser 6 mm) als auf Würzegelatine ungehopft ist. Die Kolonien sind schalenförmig vertieft, jedoch ist die zentrale Partie durch einen niederen Wall von der Randpartie getrennt. Die Randpartie ist radial gestreift. Nach sechs Wochen tritt bereits Verflüssigung der Gelatine ein. Bei der Durchsicht von unten ist an den Kolonien noch deutliche radiale Streifung zu beobachten. Die Randlinie ist sehr unregelmässig. Sowohl in der Rand- als auch in der

zentralen Partie sind zitronenförmige und nur auf einer Seite zugespitzte Zellformen vorherrschend. Dagegen treten ovale Zellen weniger häufig, und langgestreckte Zellen gar nicht auf. Die durchschnittliche Grösse der Zellen ist 4,1 μ.

Bei 12° tritt Verflüssigung der Gelatine ein, bevor die Kolonien soweit entwickelt sind, dass sie besondere Merkmale zeigen. Der Charakter der bei 6° aufgestellten Kulturen ist der gleiche wie auf den früher angegebenen Nährböden, nur dass hier die zentrale Partie von einem Wall umgeben ist.

Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose.

Die bei 18° aufgestellten Kolonien sind nach 14 Tagen schlechter entwickelt als auf Würzegelatine gehopft ohne Zusatz (Durchmesser 5 mm), jedoch ist schon zu beobachten, dass die Randpartie deutlich radial gestreift ist. Nach weiteren vier Wochen, also nach sechs Wochen, sind die Kulturen schalenförmig vertieft. Die Randpartie ist schwach radial gestreift und die Randlinie sehr regelmässig. Bei der Durchsicht von unten ist sehr deutlich regelmässige Streifung zu sehen. Auch sind Anhänge auf der Unterseite und zwar hauptsächlich unterhalb der zentralen Partie sichtbar. Das Gesamtbild ist sehr charakteristisch.

Auch auf diesem Nährboden ist die vorherrschende Zellform die zitronenförmige, während die runde und ovale mehr in den Hintergrund tritt. Langgestreckte Zellen fehlen. Die durchschnittliche Zellgrösse ist 4,3 μ. Bei 12° wachsen die Kolonien wie bei 18°. Nach sechs Wochen ist schon der Beginn einer Verflüssigung zu beobachten. Bei 6° ist die Entwicklung eine ziemlich geringe. Die zentrale Partie der Kolonien ist eingesenkt, während die Randpartie stark in die Höhe wächst und deutlich radial gestreift ist. Bei einer Kolonie sind einzelne Ströme weit über die Randlinie vorgezogen und geben der Kolonie ein unregelmässiges Aussehen. Im übrigen verläuft die Randlinie ziemlich regelmässig.

Würzegelatine gehopft + 3 % Saccharose.

Nach 14 Tagen ist bei 18° kein Unterschied zwischen den Kolonien auf Würzegelatine gehopft und jenen auf Würzegelatine gehopft + 3 % Saccharose zu sehen (Durchmesser 6 und 7 mm). Nach weiteren vier Wochen sind die Kolonien schalenförmig vertieft und zeigen in der zentralen Partie Erhebungen, die radial nach aussen verlaufen. Die Randpartie ist glatt und die Randlinie verläuft ziemlich regelmässig. Die Gelatine beginnt bereits zu verflüssigen.

Die Zellformen sind hier die gleichen wie auf Würzegelatine ungehopft. Auch bei 12° tritt schon nach sechs Wochen Verflüssigung ein. Bei 6° ist auch wieder der Charakter der gleiche, wie auf Würzegelatine ungehopft.

Kartoffelwassergelatine.

Nach 14 Tagen sind die Kolonien bei 18° noch wenig entwickelt (Durchmesser 4 und 5 mm); sie sind jedoch schon schalenförmig vertieft. Die Randpartie ist schwach radial gestreift und die Randlinie regelmässig; nur an einigen Stellen ist sie schwach gebuchtet. Nach sechs Wochen ist bereits Verflüssigung eingetreten. Sowohl zitronenförmige und an einem Ende zugespitzte als auch ovale, eiförmige und kleine runde Zellen sind in ungefähr der gleichen Menge vorhanden. Langgestreckte Zellen fehlen. Die durchschnittliche Zellgrösse ist 4 μ.

Bei 12° treten die Kolonien mit den gleichen Erscheinungen wie bei 18° auf. Auch hier beginnt schon nach sechs Wochen Verflüssigung.

Bei 6° zeigt die zentrale Partie kleine Erhebungen und die Randpartie ist radial, sowie konzentrisch gestreift. Die Randlinie verläuft ziemlich regelmässig.

Gelbrübenwassergelatine.

Beide Kolonien sind wie auf den übrigen Nährböden bei 18° schalenförmig vertieft, zeigen sonst jedoch noch wenig Charakter (Durchmesser 5 und 6 mm). Auf der Unterseite sind schon Anhänge sichtbar und zwar am

dichtesten unterhalb der zentralen Partie. Nach sechs Wochen ist bereits weitgehende Verflüssigung zu beobachten. In der Randpartie herrschen zitronenförmige und an einem Ende zugespitzte Zellen vor; daneben treten sehr viele kleine ovale Zellen auf. Dagegen ist der Hauptvertreter in der zentralen Partie die kleine ovale Zellform; auch kommen sehr viele zitronenförmige Zellen vor. Langgestreckte Zellen sind nicht häufig. Durchschnittliche Zellgrösse 4,4 μ. Auch bei 12° ist schon nach sechs Wochen Verflüssigung eingetreten.

Bei 6° ist die Entwicklung zwar gering, dafür sind aber die Wachstumserscheinungen deutlich ausgeprägt. Die zentrale Partie ist weit ausgebreitet und von einem Wall umgeben. Die Randpartie ist schwach radial gestreift. Auf der Unterseite der Randpartie sind Anhänge sichtbar.

Weissrübenwassergelatine.

Hier ist nach 14 Tagen bei 18° die Entwicklung noch sehr gering. Nach sechs Wochen ist bei einem Durchmesser der Kolonien von 8 und 13 mm schon Verflüssigung eingetreten. Die vorherrschende Zellform ist die zitronenförmige und an einem Ende zugespitzte; aber auch runde, eiförmige und ovale Zellen treten sehr häufig auf. Langgestreckte Zellen fehlen. Anhänge sind nicht vorhanden. Die durchschnittliche Grösse der Zellen ist 4,4 μ.

Bei 12° verhält sich die Kultur wie bei Zimmertemperatur. Bei 6° ist die Entwicklung gering. Die Kolonien sind schalenförmig vertieft. Die zentrale Partie ist von einem hohen Wall umgeben. Die Randpartie ist deutlich radial und konzentrisch gestreift. Die Randlinie verläuft ziemlich regelmässig.

Weisskrautwassergelatine.

Nach 14 Tagen sind die Kolonien bei 18° für die Feststellung von Besonderheiten noch zu wenig entwickelt. Dagegen sind nach weiteren vier Wochen charakteristische

Merkmale zu beobachten (Durchmesser 13 und 14 mm). Die Randpartie ist deutlich radial gestreift. Die Durchsicht von der Unterseite her lässt erkennen, dass einzelne Sektoren etwas stärker entwickelt sind, an der Oberfläche der Kolonien kommt dies jedoch nicht zum Ausdruck. Die Verflüssigung ist schon ziemlich weit vorgeschritten. Auf diesem Nährboden ist die am meisten vertretene Zellform die zitronenförmige. An einem Ende zugespitzte Zellen sind auch noch häufig, dagegen finden sich runde und ovale Zellen nur mehr in beschränkter Zahl. Die durchschnittliche Zellgrösse ist 4,2 μ.

Bei 12° verhält sich die Kultur wie bei 18°.

Bei 6° ist die Entwicklung gering. Die Kolonien sind schalenförmig vertieft. Die zentrale Partie ist von einem Wall umgeben. Die Randlinie ist deutlich radial und konzentrisch gestreift. Die Randlinie ist schwach gebuchtet. Auch Anhänge sind auf der Unterseite sichtbar.

Mostgelatine.

Nach 14 Tagen sind die bei 18° aufgestellten Kolonien noch wenig entwickelt (Durchmesser 5 mm), jedoch schon schalenförmig vertieft. Die Randpartie ist radial gestreift. Auf der Oberfläche sind gelblichweisse Erhebungen. Nach weiteren vier Wochen ist die Oberfläche der Kolonien sehr unregelmässig, da sie durch Gärungskohlensäure teilweise gehoben wurde. Die zentrale Partie ist gehoben und braun gefärbt, während die Randpartie mattgrau erscheint. Die Randlinie verläuft in flachen Wellenlinien. Anhänge sind vorhanden und zwar hauptsächlich unterhalb der zentralen Partie. Am meisten sind zitronenförmige Zellen vertreten, weniger häufig dagegen ovale und runde Zellen. Langgestreckte Zellen sind nicht beobachtet worden. Die durchschnittliche Zellgrösse ist 4,1 μ.

Bei 12° wachsen die Kolonien wie bei 18°. Auch hier sind die Kolonien schalenförmig vertieft und teilweise durch Kohlensäure gehoben. Die Randlinie verläuft ziemlich regelmässig.

Bei 6° ist die Entwicklung eine sehr geringe. Die Randpartie ist radial und konzentrisch gestreift; im übrigen stimmt sie mit der bei 12° aufgestellten Kultur überein.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Beide Kolonien sind bei 18° deutlich schalenförmig vertieft; im übrigen zeigen sie jedoch noch wenig Charakter (Durchmesser 4 und 5 mm). Nach 6 Wochen ist die Gelatine bereits stark verflüssigt. (Durchmesser 17 und 18 mm). Auch bei 12° trifft dies zu.

Bei 6° sind die Kolonien wenig entwickelt. Sie sind schalenförmig vertieft und die Randpartie ist radial gestreift.

Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

Nach 14 Tagen sind die Kulturen bei 18° noch wenig entwickelt (Durchmesser 3 mm). Nach weiteren 4 Wochen tritt bereits Verflüssigung ein (Durchmesser 10 mm). Es ist jedoch noch deutlich radiale Streifung zu beobachten. Einzelne Sektoren sind weiter über die Randlinie vorgezogen und hier tief gelappt, wodurch der Verlauf der Randlinie ein sehr unregelmässiger geworden ist. Anhänge sind nicht vorhanden. Die häufigsten Zellformen sind die zitronenförmigen und an einem Ende zugespitzten; es treten auch noch sehr viele ovale Zellen auf. In dem unteren Teil der zentralen Partie finden sich sehr häufig runde bis zu 7 μ grosse Zellen vor. Langgestreckte Zellen fehlen. Die durchschnittliche Zellgrösse ist 4,2 μ. Bei 12° ist das Wachstum das gleiche, wie bei 18°. Auch hier tritt bereits nach 6 Wochen Verflüssigung ein.

Bei 6° ist das Wachstum ein sehr geringes, so dass hier keine Beobachtungen über besondere Wachstumserscheinungen gemacht werden konnten.

Nr. 7.

Würzegelatine ungehopft.

Nach 14 Tagen sind die Kolonien bei 18° schalenförmig vertieft (Durchmesser 7 und 11 mm). Die Oberfläche der zentralen Partie ist rauh, verursacht durch sehr kleine Erhebungen. Die Randpartie ist, abgesehen von der konzentrischen und radialen Streifung, glatt. Die Rand-

linie ist unregelmässig und schwach gebuchtet. Auf der Unterseite sind gleichmässig Anhänge verteilt. Nach weiteren 4 Wochen ist die Verflüssigung der Gelatine unterhalb der zentralen Partie bereits weit vorgeschritten. Die gut erhaltene Randpartie, welche noch die schalenförmige Vertiefung erkennen lässt, ist auf der Oberfläche glatt und schleimig glänzend. Die Randpartie ist in weiten Abständen radial gestreift. Bei der Durchsicht von unten ist keine radiale Streifung zu erkennen. Vorherrschend zitronenförmige, daneben viele an einem Ende zugespitzte, ovale und runde Zellen. In der zentralen Partie kommen auch sehr viele langgestreckte Zellen (bis zu 11 μ) vor. Die nahezu in allen Zellen auftretenden Vacuolen füllen fast den ganzen Binnenraum der Zellen aus. Granula treten meist in der Ein- und Zweizahl auf. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 4,9 μ. Bei 12° sind die Kolonien auch schon nach 6 Wochen wie bei 18° verflüssigt.

Bei 6° ist die Entwicklung der Kolonien sehr gut zu verfolgen. Die zentrale Partie ist schwach eingesenkt, während die Randpartie wallartige Ringe und ausserdem noch radiale und konzentrische Streifung zeigt. Die Randlinie ist schwach gebuchtet.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Die bei 18° aufgestellten Kolonien sind nach 14 Tagen schon gut entwickelt (Durchmesser 6 und 10 mm); im Flächenwachstum besteht kein Unterschied gegenüber Würzegelatine ohne Zusatz. Kolonien schalenförmig vertieft. Ihre Oberfläche ist glatt bis auf den äussersten Rand, welcher leicht radial gestreift ist. Die Randlinie ist sehr unregelmässig und z. T. sehr tief gebuchtet. Die Farbe der Kolonien ist grau und in der Mitte schleimig glänzend, während die Randpartie mattglänzend ist. Auf der Unterseite sind Anhänge gleichmässig verteilt. Nach weiteren 4 Wochen ist die Verflüssigung der Gelatine so weit vorgeschritten, dass über das Aussehen der Kolonien nichts mehr zu sagen ist. Während in der Randpartie hauptsächlich zitronenförmige, dagegen weniger runde, ovale

und langgestreckte Zellen auftreten, finden sich in der zentralen Partie hauptsächlich dünne, langgestreckte, ellipsoidische Zellen, weniger zitronenförmige. Runde und ovale Zellen sind ziemlich wenig vorhanden. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 3,6 μ.

Bei 12° ist ebenso wie bei 18° schon sehr bald Verflüssigung eingetreten.

Bei 6° ist das Wachstum wie bei Würzegelatine ungehopft, nur dass auf der Oberfläche der Randpartie grosse Erhebungen auftreten. Auch sind Anhänge in gleichmässiger Verteilung auf der Unterseite vorhanden.

Würzegelatine ungehopft + 3% Saccharose.

Die Kolonien sind bei 18° mässig entwickelt (Durchmesser 6 mm). Die Entwicklung ist geringer als bei Würzegelatine ohne Zusatz. Die Erscheinungen sind mit Ausnahme des Fehlens der konzentrischen Streifung nach 14 Tagen die gleichen wie auf Würzegelatine ungehopft. Nach weiteren 4 Wochen ist die zentrale Partie tief eingesenkt und die Oberfläche von zahlreichen Erhebungen bedeckt. Die Randpartie ist schwach radial und konzentrisch gestreift. Die Randlinie ist an manchen Stellen tief eingebuchtet, verläuft jedoch im allgemeinen in flachen Wellenlinien. Nach 3 Monaten ist die Gelatine zum grossen Teil verflüssigt. Was die Zellformen auf diesem Nährboden betrifft, so treten hier die gleichen wie auf Würzegelatine ungehopft auf. Langgestreckte Zellen fehlen. Auch die Grösse der Zellen stimmt mit jenen überein.

Bei 12° ist das Wachstum wie bei 18°. Auch hier tritt bereits nach 6 Wochen Verflüssigung der Gelatine ein. Bei 6° wächst die Kultur wie auf Würzegelatine ungehopft, jedoch bleibt sie in ihrer Entwicklung hinter jener zurück.

Würzegelatine gehopft.

Die Kolonien sind nach 14 Tagen bei 18° noch wenig entwickelt (Durchmesser 5 und 6 mm), jedoch lassen sie schon den gleichen Charakter wie auf Würzegelatine un-

gehopft mit und ohne Zusatz von Dextrose erkennen, vor allem die schalenförmige Vertiefung. Die Kolonien sind mattglänzend. Nach 6 Wochen ist die Verflüssigung der Gelatine schon sehr weit vorgeschritten. Die vorherrschende Zellform ist in der Randpartie der Kolonien die zitronenförmige. Von den übrigen Zellformen kommen noch sehr häufig die an einem Ende zugespitzte, etwas weniger dagegen die eiförmige und ovale vor. In der zentralen Partie kommen zwar noch sehr viele zitronenförmige Zellen vor, vorherrschend jedoch runde und ovale Zellen. Langgestreckte Zellen fehlen. Die durchschnittliche Crösse der Zellen ist 4,2 μ. Bei 12° wachsen die Kolonien wie die bei 18° aufgestellten, während die bei 6° aufgestellten, auch nach 3 Monaten noch sehr wenig entwickelt waren.

Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose.

Das Wachstum bei 18° ist nach 14 Tagen wie auf Würzegelatine gehopft ohne Zusatz (5 und 6 mm), jedoch sind die Kolonien schleimig glänzend. Anhänge sind auf der Unterseite erkennbar. Nach 6 Wochen tritt bereits Verflüssigung ein. Sowohl in der Rand- als auch in der zentralen Partie ist die Zitronenform der Zelle die vorherrschende. Die meisten übrigen Zellen sind an einem Ende zugespitzt. Nur verhältnismässig wenige sind rund und oval. In dem unteren Teil der zentralen Partie kommen auch sehr häufig dünne und nadelförmige Zellen vor, die stark gekörnt sind. Anscheinend tot, nahmen sie bei der Prüfung jedoch Methylenblau nicht auf; die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 4,4 μ. Bei 12° ist das Gesamtbild der Kolonien wie bei 18°, jedoch sind auf der Oberfläche Erhebungen sichtbar. Verflüssigung tritt erst nach ungefähr 3 Monaten ein.

Bei 6° ist die Entwicklung der Kolonien sehr gering. Auf der Unterseite sind Anhänge vorhanden.

Würzegelatine gehopft + 3% Saccharose.

Das Wachstum auf diesem Nährboden ist bei 18° gleich dem auf Würzegelatine gehopft ohne Zusatz (Durch-

messer 5 und 6 mm). Es ist also keine Beeinflussung durch Zuckerzusatz zu beobachten. Die Kolonien sind schalenförmig vertieft. Auf der Oberfläche zeigen sich keine Erhebungen und die Randlinie ist sehr regelmässig. Auf diesem Nährboden sind die morphologischen Eigenschaften der Zelle die gleichen wie auf Würzegelatine gehopft ohne Zuckerzusatz.

Bei 12° ist das Wachstum wie bei 18°, nur dass die Kolonien nicht so stark schalenförmig vertieft sind.

Bei 6° sind die Kolonien zu wenig entwickelt, um etwas charakteristisches zu zeigen.

Kartoffelwassergelatine.

Das Wachstum bei 18° ist das gleiche wie auf Würzegelatine gehopft mit oder ohne Zusatz (Durchmesser 5 und 7 mm). Die Kolonien sind schleimig glänzend. Auf der Unterseite sind an einzelnen Stellen Anhänge sichtbar und zwar hauptsächlich unterhalb der zentralen Partie. Nach weiteren 4 Wochen ist bereits Verflüssigung eingetreten, jedoch ist am Rande noch deutliche radiale Streifung erkennbar. Am meisten sind zitronenförmige Zellen vertreten, aber auch runde und ovale Zellen sind noch sehr häufig. Langgestreckte Zellen kommen nur in der zentralen Partie vor und zwar solche bis 19 μ Länge. Die durchschnittliche Grösse der Zellen ist 4,7 μ.

Auch hier ist bei 12° das Wachstum das gleiche wie bei 18°. Bereits nach 6 Wochen tritt Verflüssigung ein. Bei 6° ist das Wachstum ein sehr geringes. Die Kolonien sind schalenförmig vertieft. Auf der Oberfläche sind sehr kleine Erhebungen sichtbar.

Gelbrübenwassergelatine.

Nach 14 Tagen sind die bei 18° aufgestellten Kulturen tief in das Substrat eingesunken (Durchmesser 5 und 6 mm). Auf der Oberfläche ist radiale Streifung nicht erkennbar, dagegen sind im Lupenbild bei Betrachtung der Kolonien von der Unterseite her Anhänge hauptsächlich unterhalb der zentralen Partie sichtbar. Nach 6 Wochen ist die Verflüssigung bereits sehr weit vorgeschritten. Die

bisher aufgeführten Zellformen kommen auf diesem Nährboden in ungefähr gleicher Verteilung vor, ausgenommen die langgestreckten Zellen, welche in diesem Falle scheinbar keine günstigen Entwicklungsbedingungen finden.

Bei 12° sind die Kolonien schalenförmig vertieft. Die Randpartie ist radial gestreift. Die Randlinie verläuft sehr regelmässig. Anhänge sind hauptsächlich unterhalb der zentralen Partie sichtbar. Verflüssigung trat erst nach 3 Monaten ein.

Bei 6° ist die Entwicklung sehr gering, die Kolonien schalenförmig vertieft. Auf der Unterseite sind Anhänge sichtbar.

Weissrübenwassergelatine.

Das Wachstum bei 18° ist im Gesamtbild wie auf den 3 letztgenannten Nährböden (Durchmesser 3 und 5 mm). Im Lupenbild ist bei dem sehr dünnen Belag radiale Streifung sehr deutlich sichtbar. Nach 6 Wochen ist die Verflüssigung schon sehr weit vorgeschritten. Was die langgestreckten Zellen betrifft, so bildet dieser Nährboden eine Ausnahme, denn hier finden sich im Gegensatz zu den anderen langgestreckte Zellen weniger in der zentralen als in der Randpartie. Die am meisten auftretende Zellform ist die zitronenförmige; runde und ovale Zellen kommen verhältnismässig weniger vor. Auch sehr dünne nadelförmige Zellen finden sich. Die grösste gemessene Zelle hatte eine Länge von 36 μ. Die durchschnittliche Grösse der Zelle ist 4,3 μ.

Bei 12° ist das Wachstum wie bei 18°. Die Kolonien sind schwach schalenförmig vertieft. Die Verflüssigung tritt erst nach 8 Wochen ein. Bei 6° ist die Entwicklung sehr gering; es ist deshalb nichts weiter zu beobachten, als dass die Kolonien schalenförmig vertieft und Anhänge auf der Unterseite vorhanden sind und zwar die meisten unterhalb der zentralen Partie.

Weisskrautwassergelatine.

Die Entwicklung bei 18° ist etwas besser als auf Weissrübenwassergelatine (Durchmesser 3 und 6 mm).

Die Wachstumserscheinungen sind die gleichen wie auf jenem Nährboden. Auch hier ist im Lupenbild, wenn die Kolonien von der Unterseite betrachtet werden, sehr deutliche radiale Streifung erkennbar. Nach 14 Tagen sind schon Anhänge unterhalb der zentralen Partie sichtbar. Während nach weiteren 4 Wochen die eine Kolonie noch deutliche radiale Streifung zeigt, ist von einer solchen bei der zweiten Kolonie nichts mehr wahrnehmbar, da die Verflüssigung schon ziemlich weit vorgeschritten ist. Was das Vorkommen der verschiedenen Zellformen betrifft, so stimmen diese mit jenen auf Weißrübenwassergelatine überein. Durchschnittliche Zellgrösse 3,8 μ. Bei 12° ist das Wachstum wie bei 18°. Nach 6 Wochen ist die Verflüssigung der Gelatine schon weit vorgeschritten.

Bei 6° dagegen ist keine Verflüssigung eingetreten und sind deshalb hier die charakteristischen Wachstumserscheinungen sehr schön sichtbar. Die zentrale Partie ist schalenförmig vertieft und von einem Wall umgeben. Die Randpartie ist ziemlich regelmässig. Anhänge sind unterhalb der zentralen Partie sichtbar.

Mostgelatine.

Nach 14 Tagen sind die bei 18° aufgestellten Kolonien schalenförmig vertieft (Durchmesser 4 mm). Auf der Oberfläche, besonders in der zentralen Partie zeigen sich weissliche bis braune Erhebungen. Die Randpartie ist radial gestreift. Die Randlinie verläuft ziemlich regelmässig. Die Farbe der Kolonie ist grau. Sie besitzen matten Glanz. Nach weiteren 4 Wochen ist die Beobachtung die gleiche, wie nach den ersten 14 Tagen; es sind keine neuen Wachstumserscheinungen hinzugetreten. Während nach 3 Monaten die eine Kolonie durch Gasblasen gehoben erscheint, ist die zentrale Partie der zweiten Kolonie von einem Wall umgeben. Die Randpartie ist wenig radial gestreift und zeigt auf der Oberfläche zahlreiche sehr kleine Erhebungen, die sich durch ihre hellere Farbe von der übrigen Randpartie scharf abheben. Die Randlinie verläuft ziemlich unregelmässig.

Bei 12° ist das Wachstum wie bei Zimmertemperatur. Bei 6° ist nichts charakteristisches zu beobachten, da die Entwicklung viel zu gering ist. Die vorherrschende Zellform ist die zitronenförmige. Es treten aber auch noch häufig runde und ovale Zellen auf.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Die Wachstumserscheinungen bei 18° sind nach 14 Tagen wie auf Gelbrübenwassergelatine (Durchmesser 4 mm). Infolge des klaren Nährbodens lassen sich die Kolonien sehr gut von der Unterseite betrachten. Auch hier ist nach 6 Wochen die Verflüssigung schon sehr weit vorgeschritten, ebenso bei 12°, bei welcher Temperatur das Wachstum vor der Verflüssigung gleich dem bei 18° ist. Anhänge waren nicht zu beobachten. Die vorherrschende Zellform ist die zitronenförmige. Häufig kommen auch noch an einem Ende zugespitzte, dagegen nur mehr wenige runde und ovale vor. Langgestreckte Zellen konnten nicht beobachtet werden. Die durchschnittliche Zellgrösse ist 4 μ. Bei 6° ist die Entwicklung zu gering, als dass charakteristische Wachstumserscheinungen zu erkennen gewesen wären. Nur Anhänge konnte man sehen.

Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

Nach 14 Tagen ist das Wachstum bei 18° etwas geringer als auf Hefenwassergelatine + 3% Dextrose. (Durchmesser 3 und 4 mm). Im übrigen aber ist das Wachstum wie auf dem letztgenannten Nährboden. Nach 6 Wochen tritt bereits Verflüssigung ein. Die Randpartie ist deutlich radial gestreift; einzelne Sektoren sind über die Randlinie vorgezogen, infolgedessen erscheint letztere gelappt, so dass der Verlauf der Randlinie ein sehr unregelmässiger ist. Der vorliegende Nährboden ist für diese Kultur nicht günstig, denn die Grösse der Zellen (3,8 μ) bleibt ziemlich weit hinter der auf anderen Nährboden zurück. Die am häufigsten auftretende Zellform ist die zitronenförmige; verhältnismässig selten dagegen treten runde und ovale Zellen auf.

Bei 12° ist das Wachstum genau wie bei Zimmertemperatur. Die Entwicklung der Kolonien bei 6° war sehr gering; infolgedessen kamen sie für die Beobachtung nicht in Betracht.

Wenn wir nach den vorhergehenden Einzelschilderungen das Gesamtbild der Riesenkolonien der 4 untersuchten Apiculatusformen zu konstruieren versuchen, so ergibt sich, dass es an sich keine besonderen hervorstehenden Merkmale aufweist.

Die Riesenkolonien stellen im allgemeinen flächig ausgebreitete, meist nicht sehr hohe Beläge dar, wie wir sie bei der ersten Gruppe der Torulaceen mit in der Hauptsache kugelförmigen und ellipsoidischen Zellen wiederfinden.[1]) Bei manchen Arten von jener Gruppe mit lebhafter Vermehrung kommt es zu schwach ausgeprägter radialer Streifung oder zu radial verlaufenden einfachen Faltungen und zu langgezogenen Erhebungen sowie zu Kräusselungen auf der Oberfläche. Bei den 4 untersuchten Apiculatusformen fehlen die letzten jedoch vollständig, soweit die verwendeten Nährböden in Betracht kommen. Sehr wahrscheinlich ist die Ursache dieser Erscheinung in dem im Vergleich zu jenen Torulaarten geringeren Vermehrungsvermögen der Apiculatusformen zu suchen. Der Nährwert des Substrates und die Temperatur spielt dabei noch eine Rolle. Im übrigen ist aber auf der Oberfläche der Randpartie meist eine schwache radiale, bei Zimmertemperatur zuweilen, bei niederer Temperatur (6°) fast stets auch eine konzentrische Streifung sichtbar. Bei niederer Temperatur ist auch die radiale Streifung schärfer ausgeprägt. Ein charakteristisches Merkmal ist diese Streifung umsoweniger, als sie in den gleichen Kolonien wechselt; sie tritt auf und verschwindet anscheinend äusserlich, bleibt aber erhalten, wie bei der Durchsicht durch die Kolonien noch deutlich zu erkennen ist. Ihren Höhepunkt erreicht die radiale Streifung, die wohl der Aus-

[1]) H. Will, Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. III. Mitt. Zentralbl. Bakt. II, Abt. 1906, 17, S. 3. Tf. I und II.

druck eines lokalen stärkeren Wachstums ist, in der stärkeren Entwicklung einzelner Sektoren des Belages, welche dann aus der Oberfläche des Belages stärker hervortreten.

Schander[1]) hat diese Erscheinung bei den von ihm untersuchten Apiculatusformen anscheinend ebenfalls beobachtet. Er gibt an: „Typus II erinnert mehr an die Riesenkulturen der echten Hefen, ist wenig eingesenkt, fast flach, aber nicht erhaben. Die Oberfläche ist matt und durch radiale Querstreifen, meist 5, in einzelne Felder zerlegt.“ Eine solche Regelmässigkeit in der Anzahl der stärker entwickelten Sektoren konnten wir nicht feststellen.

Mit dem stärkeren Hervortreten einzelner Sektoren wird auch die radiale Streifung ausgesprochener. Eine radiale Streifung ist zuweilen erst bei der Durchsicht der Kolonien von unter her erkennbar.

Wie bei den Riesenkolonien der ersten Gruppe der Torulaceen macht sich noch eine andere Art lokalen Wachstums geltend, die aber niemals so stark wie dort hervortritt. Häufiger auf der im übrigen glatten Oberfläche der zentralen Partie als auf derjenigen der Randpartie treten flache Erhebungen auf, die aber niemals warzen- oder halbkugelförmig wie bei den Torulaceen werden. Die flachen Erhebungen gleichen sich auch wieder aus. Sind sie vorhanden, so erscheint die Oberfläche rauh, gekörnt. Es gewinnt den Anschein, als ob diese lokalen Erhebungen bei No. 7 häufiger sind, als bei No. 1, 3 und 4. Am häufigsten scheinen sie auf der Mostgelatine zu sein (bei allen 4 Formen). Eine regelmässige und deshalb besonders charakteristische Erscheinung sind also auch jene lokalen Wucherungen nicht, ebensowenig wie die stärkere Entwicklung einzelner Sektoren, immerhin bietet diese, wie wir sehen werden, ein Unterscheidungsmerkmal dar.

Die Oberfläche der Riesenkolonien ist zum grössten Teil glatt, und mehr oder weniger glänzend. Als charak-

[1]) Untersuchungen über Sacch. apiculatus Reess. Ber. der Kgl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. 1903 Berlin, P. Parey, 1904 S. 123.

teristisch für die Riesenkolonien der untersuchten Apiculatusformen darf die scharfe Begrenzung der zentralen Partie durch einen mehr oder minder ausgebildeten „Wall" bezeichnet werden, obwohl die gleiche Erscheinung, die jedenfalls durch besondere Wachstumsverhältnisse hervorgerufen wird, auch bei einer der bis jetzt untersuchten Torulaarten der ersten Gruppe regelmässig vorkommt. Uebrigens treten auch in Hinsicht auf dieses Merkmal Variationen auf in der Weise, dass die Wallbildung mehr und mehr zurückgeht; sie unterbleibt selbst und damit erscheint auch die zentrale Partie von der Randpartie nicht mehr so scharf, immerhin aber noch deutlich abgesetzt. Es wiederholen sich eben die gleichen bei den Torulaceen beobachteten Erscheinungen, dass die auf verschiedenen Nährböden und bei verschiedener Temperatur gewachsenen Riesenkolonien graduelle Unterschiede in der Ausbildung des Oberflächenbelages zeigen. Die zentrale Partie der Riesenkolonie kann eingesenkt oder hoch erhoben sein; ein konstantes Merkmal ist damit nicht gegeben. Die Einsenkung kann sich in das Gegenteil kehren; eine anfangs erhöhte zentrale Partie kann einsinken. Sicher übt die Temperatur in der Richtung eine Wirkung aus, dass die zentrale Partie bei niederer Temperatur meist erhöht erscheint.

Die Randlinie verläuft im allgemeinen glatt, in flachen Wellenlinien, wenn nicht eine unregelmässige Ausbreitung des Impftropfens bei dünnflüssiger Beschaffenheit oder die stärkere Entwicklung einzelner Sektoren, welche weit über den Rand der Riesenkolonien hervorgezogen erscheinen, Unregelmässigkeiten und tiefere Einbuchtungen der Randlinie verursachen.

Wenngleich verschiedene Farbentöne an den Riesenkolonien auftreten, so sind diese doch, mit Ausnahme der wachsartigen Färbung, welche an den Riesenkolonien auf Kartoffelwassergelatine in bestimmten frühen Entwicklungsstadien zum Vorschein kommt, von viel zu geringer Intensität und Beständigkeit, als dass sie von Bedeutung für die Charakterisierung der Riesenkolonien sein könnten. Auffällig erscheint es, dass an diesen, abgesehen von der

Mostgelatine, keine dunkleren Farbentöne auftreten, nachdem doch die Absätze in Flüssigkeitskulturen, besonders in Würze in der Regel tief dunkelbraun gefärbt erscheinen.[1])

Die Riesenkolonien lassen sich mit glatten Rändern leicht durchschneiden (teigige, trockene Beschaffenheit) und glatt von der Unterlage abheben. Als erstes charakteristisches Merkmal der Riesenkolonien der 4 untersuchten Apiculatusformen ist also die grosse Einfachheit des Oberflächenbelages zu bezeichnen, deren Ursache jedenfalls in der Einfachheit der Zellformen, welche sie aufbauen und in der verhältnismässig langsamen Vermehrung der Zellen zu suchen ist. Schon die Erscheinungen der Einzellkulturen liessen eine einfache Form der Riesenkolonie erwarten. Die Einfachheit des Oberflächenbelages würde den Riesenkolonien ihren Platz bei der zweiten Grundform[2]) anweisen.

Charakteristisch für diese Grundform ist aber, dass sie nicht in die Gelatine hineinwächst und infolgedessen auch keine Anhänge auf der Unterseite besitzt. Dies trifft nun für die Riesenkolonien der vorliegenden Apiculatusformen nicht zu. Die direkte und die mikroskopische Beobachtung hat unzweifelhaft ergeben, dass von der Unterseite der Riesenkolonien, wenn auch in verschiedenem Grade ausgebildet, bald anscheinend gänzlich fehlend, bald sehr stark entwickelt, einzelne Bündel von Zellen in die Gelatine hineinwachsen. In einem typischen Falle hat sich nach dem Abwaschen des Oberflächenbelages durch vorsichtiges Aufspritzen von Wasser mit einer Spritzflasche gezeigt, dass, genau so wie beispielsweise bei untergäriger Bierhefe und anderen Saccharomyceten, zahlreiche isolierte Bündel von Zellen mit geringen Abständen zwischen sich in konzentrischen Kreisen, aber nicht radial angeordnet in Gelatine hineingewachsen waren. Die Anhänge der Unterseite der Riesenkolonien erscheinen nicht immer gleich-

[1]) H. Will, Anleitung zur biologischen Untersuchung u. s. w. S. 177. Vergl. auch diese Abhandlung S. 63.

[2]) H. Will, Anleitung u. s. w. S. 112.

mässig verteilt, wie bei den Saccharomyceten. Bald befinden sie sich nur unterhalb der zentralen Partie, bald nur unterhalb des Walles, der diese umgrenzt, bald auch unterhalb einzelner entwickelterer Sektoren der Randpartie, bald unterhalb der ganzen Kolonie, wobei unterhalb der zentralen Partie die Anhänge stärker entwickelt sind. Die konzentrische Streifung des Oberflächenbelages steht wahrscheinlich mit dem Auftreten der Anhänge und ihrer Verteilung in konzentrischen Kreisen in Zusammenhang.

In den Anhängen auf der Unterseite haben wir ein zweites charakteristisches Merkmal der Riesenkolonien der Apiculatusformen kennen gelernt.

Die Einfachheit des Oberflächenbelages zusammen mit den Anhängen auf der Unterseite charakterisiert aber die Riesenkolonien der 4 Apiculatusformen ungemein scharf.

Sie heben die Riesenkolonien aus allen bis jetzt näher untersuchten Riesenkolonien der Saccharomyceten und der übrigen Sprosspilze hervor und zwingen dazu, sie entweder einer neu zu schaffenden Unterabteilung der zweiten Grundform einzureihen, oder für sie und ähnliche, die vielleicht später noch gefunden werden, eine neue Grundform aufzustellen. In die dritte, bis jetzt aufgestellte Grundform, mit welcher die Riesenkolonien der Apiculatusformen eine gewisse Aehnlichkeit besitzen (sie kommt hauptsächlich bei gewissen Arten der zweiten Torula-Gruppe vor), lassen sie sich nicht einreihen, da diese Organismen mit gemischten Zellformen umfasst, deren Anhänge in die Unterlage mit weit verzweigten Sprossverbänden langgestreckter Zellen hineinwachsen. Wenn nun auch, wie ausgeführt, die Gestalt der Zellen bei den Apiculatusformen wechselt, so finden sich doch niemals so lange gestreckte Zellen wie bei den Arten der zweiten Torula-Gruppe vor.

Im Rahmen dieses allgemeinen Bildes treten nun wieder Verschiedenheiten auf, welche gestatten, die Riesenkolonien der 4 untersuchten Formen

und damit diese selbst in zwei Gruppen einzuordnen.

Im Gegensatz zu den ausgewachsenen Riesenkolonien von No. 1 und 3, welche mehr oder weniger flach ausgebreitet sind, erscheinen die Riesenkolonien von No. 4 und 7, und zwar schon in einem frühen Alter in ihrer Gesamtheit schalenförmig vertieft, also tief eingesenkt. In Uebereinstimmung mit unseren Beobachtungen scheinen diejenigen von Schander[1]) zu stehen, welcher angibt: „Bei den runden Kolonien (Riesenkolonien) treten die beiden Typen (von Apiculatusformen) deutlicher hervor. Typus 1 zeigt tief eingesenkte Formen."

Ferner entwickeln sich bei den Riesenkolonien von No. 4 und 7 einzelne Sektoren nicht stärker wie bei denjenigen von No. 1 und 3, überhaupt sind die Riesenkolonien von No. 1 und 3 durchgehends kräftiger entwickelt als diejenigen der zweiten Gruppe. Damit hängt auch jedenfalls das äussere Hervortreten einzelner Sektoren der Riesenkolonien bei der ersten Gruppe zusammen. Im Gegensatz steht das in den Flüssigkeitskulturen beobachtete stärkere Vermehrungsvermögen von No. 4 und in gewissem Grad auch von No. 7.

Innerhalb der einzelnen Gruppen treten nun wieder gewisse graduelle Unterschiede hervor. So sind beispielsweise die Kolonien von Nr. 3 allgemein besser entwickelt als diejenigen von No. 1.

Bei der Beobachtung der Riesenkolonien hat sich gleichzeitig noch in anderer Richtung ein Merkmal ergeben, durch welches sich die beiden Gruppen von Apiculatusformen sehr scharf unterscheiden. No. 4 und 7 verflüssigten die Gelatine viel rascher als No. 1 und 3 und zwar verflüssigte No. 4 frühzeitiger als No. 7. Am frühesten wurden Hefenwassergelatine + 3% Dextrose und die verschiedenen aus Pflanzensäften hergestellten Gelatinen verflüssigt. In Beziehung auf die Verteilung der verschie-

[1]) a. a. O.

denen bei Apiculatus auftretenden Zellformen wäre zu bemerken, dass in der Randpartie gedrungenere, besonders die an einem Ende zugespitzten Zellen auftreten, während die zentrale Partie neben diesen und Riesenzellen meist noch gestreckte Zellen in wechselnder Zahl aufbauen.

Die Anhänge setzen sich meist aus ellipsoidischen Zellen zusammen, die in der Mitte eingeschnürt sind. Sie zeigen weder Vacuolen noch Granula. In der zentralen Partie kommen sehr viel langgestreckte und auch nadelförmige Zellen vor.

Ungehopfte Würzegelatine mit und ohne Zuckerzusatz sagt den untersuchten Apiculatusformen am besten zu, während das Wachstum auf gehopfter Würzegelatine mit oder ohne Zusatz schon bedeutend geringer ist. Die in die Würze übergehenden Hopfenbestandteile hemmen also die Vermehrung der Apiculatuszellen. Zusatz von Saccharose zu gehopfter Würzegelatine hat die Entwicklung der Riesenkolonien nur nicht gefördert, sondern schien sogar in einzelnen Fällen der Entwicklung hinderlich zu sein.

Dextrosezusatz förderte das Wachstum ebenfalls nicht immer.

Gute Ernährungsbedingungen bietet ferner noch Hefenwassergelatine + 3% Dextrose, während sie auf den folgenden Nährböden in der eingehaltenen Reihenfolge immer schlechter werden: Most-, Kartoffelwasser-, Gelbrübenwasser-, Weissrübenwasser- und Weisskrautwassergelatine.

Wachstumserscheinungen in Stichkulturen.

Für die Diagnose der Sprosspilze können auch die Erscheinungen in Stichkulturen Bedeutung nach verschiedenen Richtungen hin gewinnen; deshalb wurden auch solche in verschiedenen Nährböden in der üblichen Weise mit 2 Tage alten bei 25° C in gehopfter Würze mit Zusatz von 3% Dextrose herangezüchteten Kulturen angelegt. Die Höhe der Gelatine war in allen Reagenzröhrchen 50 mm. Die Kulturen wurden im Laboratorium

bei einer durchschnittlichen Temperatur von 18° C aufgestellt. Die Beobachtungen wurden im Laufe von 3 Monaten gemacht.

No. 1.

Würzegelatine ungehopft.

Die Kultur wächst längs des ganzen Stichkanals bis zum Boden des Reagenzrohres. Im oberen Teil des Stichkanals sind dichtgedrängt mehr oder weniger isolierte kugelförmige bis ellipsoidische Kolonien, während im unteren Teil des Stichkanals die Kolonien nur noch vereinzelt vorkommen, aber noch dieselben Formen wie im oberen zeigen. Die Umgrenzungslinie der Kolonien ist scharf und regelmässig. Es ist auch Oberflächenvegetation vorhanden, die dieselben Erscheinungen wie bei den Riesenkolonien aufweist. Verflüssigung war auch nach 3 Monaten noch nicht zu beobachten.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Die Wachstumsform des Oberflächenbelages und der isolierten Kolonien längs des Stichkanals stimmt ebenfalls mit derjenigen in Würzegelatine ungehopft überein. Auch hier war nach 3 Monaten keine Verflüssigung zu beobachten.

Würzegelatine gehopft und Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose.

Auch hier ist die Tiefe und Stärke des Wachstums und die Wachstumsform die gleiche wie in Würzegelatine ungehopft. Verflüssigung der Gelatine war nach 3 Monaten nicht zu beobachten.

Kartoffelwassergelatine.

Das Wachstum ist in diesem Nährboden nicht so stark, wie in Würzegelatine ungehopft. Der Oberflächenbelag zeigt die gleichen Erscheinungen, wie bei den Riesenkolonien. Im Stichkanal reicht das Wachstum in einer Kultur nur bis zu 15 mm in die Gelatine, während es in der zweiten Kultur bis zu 30 mm herabsteigt. Die Form der Kolonien ist die gleiche wie in Würzegelatine ungehopft. Nach 33 Tagen trat wahrnehmbare Verflüssigung ein, die

aber nicht vorschritt, da die Eintrocknung der Gelatine rasch zunahm.

Gelbrübenwassergelatine.

Das Wachstum ist auf der Oberfläche ziemlich gut, während es im Stichkanal nur bis ungefähr zu $^2/_3$ der Gelatineschicht hinabreicht. Die Form der Kolonien ist wie bei der Würzegelatine ungehopft, sehr regelmässig. Verflüssigung trat auch nach 3 Monaten nicht ein.

Weissrübenwassergelatine.

Dieser Nährboden ist für die Form 1 nicht günstig, denn das Wachstum ist ein sehr geringes. Die Kolonien sind kleiner als in den vorhergehenden Nährböden, jedoch auch regelmässig. Das Wachstum im Stichkanal reicht bis zu 41 mm in die Gelatine hinein. Das Oberflächenwachstum ist sehr gering und daher der Oberflächenbelag auch nur von geringer Ausdehnung. Nach 33 Tagen ist bereits Verflüssigung eingetreten, die jedoch nach 2 Monaten nicht mehr zu beobachten ist, da die Gelatine sehr rasch und stark eintrocknete.

Weisskrautwassergelatine.

Die Entwicklung sowohl auf der Oberfläche als auch im Stichkanal ist mässig und ist im Stichkanal nur bis zu einer Tiefe von 14 mm zu beobachten. Die isolierten Kolonien sind grösser als in Weissrübenwassergelatine. Ihre Form ist wie in Würzegelatine ungehopft. Nach 3 Monaten ist trotz starker Eintrocknung der Gelatine eine schwache Verflüssigung zu beobachten. Der Abbau der Gelatine war also offenbar weiter gediehen als bei der Weissrübenwassergelatine.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Sowohl auf der Oberfläche, als auch im Stichkanal ist das Wachstum ein geringes. Die Kolonien sind kleiner als in Würzegelatine ungehopft; ihre Form ist aber auch sehr regelmässig. Nach 33 Tagen ist bereits Verflüssigung eingetreten, die nach 3 Monaten trotz der starken Eintrocknung bis ungefähr zur Hälfte des ursprünglichen Gelatinevolumens vorgeschritten ist.

Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

Das Wachstum ist noch geringer als in Hefenwassergelatine + 3% Dextrose. Nur wenige Kolonien sind im Stichkanal, die, von regelmässiger Form, isoliert sind. Ihre Grösse bleibt hinter derjenigen der Kolonien in Hefenwassergelatine + 3% Dextrose zurück. Keine Verflüssigung.

No. 3.

Diese Kulturen sind durchwegs besser entwickelt als diejenigen von No. 1.

Würzegelatine ungehopft.

Sowohl auf der Oberfläche als auch im Stichkanal ist das Wachstum sehr gut. Die Erscheinungen des Oberflächenbelages sind die gleichen wie bei den Riesenkolonien. Im Stichkanal sind noch in einer Tiefe von 31 mm gut entwickelte Kolonien zu sehen. Die Kolonien im Stichkanal hängen häufig zusammen und erscheinen vielfach gestielt, wie eine Traube, deren Beeren an ganz kurzen Stielen sitzen. Nach 18 Tagen sind die Kolonien kugelförmig bis ellipsoidisch und ihre Umgrenzung erscheint regelmässig, während sie nach 3 Monaten Auswüchse zeigen, wodurch die Umgrenzungslinie sehr unregelmässig wird. Verflüssigung ist nicht zu beobachten.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Das Wachstum auf der Oberfläche ist sehr üppig und zeigt die gleichen Erscheinungen, wie die Riesenkolonien. Im Stichkanal wachsen noch in einer Tiefe von 31 mm spärlich Kolonien, während sie im oberen Teil des Stichkanals sehr üppig auftreten. Auch nach 3 Monaten sind die Kolonien noch sehr regelmässig. Verflüssigung ist nicht zu beobachten.

Würzegelatine gehopft.

Das Wachstum ist wie schon bei den Riesenkolonien bemerkt, nicht mehr so stark, wie in Würzegelatine ungehopft. Die Form und Grösse der Kolonien ist jedoch wie dort. Nach 2 Monaten ist der Stichkanal durch ein-

getretene Verflüssigung sehr stark erweitert. Die Form der isolierten Kolonien ist nicht mehr ganz regelmässig.

Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose.

Während das Wachstum auf der Oberfläche ein mässiges ist, erscheint es im Stichkanal gut. Nach 18 Tagen sind die Kolonien gross, kugelförmig bis ellipsoidisch und erscheinen vielfach gestielt. Nach 2 Monaten ist der Stichkanal durch eingetretene Verflüssigung stark erweitert. Während die Kolonien im unteren Teil der Gelatine regelmässig sind, erscheinen die im oberen Teil der Gelatine befindlichen sehr unregelmässig.

Kartoffelwassergelatine.

Das Oberflächenwachstum ist mässig; dagegen ist die Vermehrung im Stichkanal ziemlich gut. Die isolierten Kolonien sind kugelförmig und regelmässig; sie behalten diese Eigenschaften auch während 3 monatlicher Beobachtungsdauer. Nach 2 Monaten ist geringe Verflüssigung zu beobachten.

Gelbrübenwassergelatine.

Der Stichkanal ist bis an sein unteres Ende mit Kolonien besetzt. Die Kolonien sind klein, dicht gedrängt, ellipsoidisch und vielfach gestielt. Nach 2 Monaten ist durch mässige Verflüssigung der Stichkanal erweitert und die Umgrenzungslinie der Kolonien nicht mehr regelmässig.

Weissrübenwassergelatine.

Auch hier ist das Wachstum im Stichkanal ziemlich gut; jedoch sind die Kolonien klein. Am Ende des Stichkanals erscheinen sie gross und kugelförmig. Nach 33 Tagen tritt Verflüssigung ein.

Weisskrautwassergelatine.

Der Oberflächenbelag ist analog den Riesenkolonien von geringer Ausdehnung. Das Wachstum ist im Stichkanal gut, die Kolonien sind mehr oder weniger kugelförmig und bleiben auch während 3 monatlicher Beobachtungsdauer regelmässig umgrenzt. Nach 2 Monaten ist der Stichkanal infolge eingetretener Verflüssigung erweitert.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Während das Oberflächenwachstum gering ist, ist die Vermehrung im Stichkanal sehr gut. Im unteren Teil desselben, wo die Kolonien mehr isoliert sind, erscheinen diese klein und regelmässig. Nach 18 Tagen ist schon sehr weitgehende Verflüssigung zu beobachten.

Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

Auch hier ist das Wachstum im Stichkanal wie in Hefenwassergelatine + 3% Dextrose ein gutes. Die Form und Grösse der Kolonien ist im allgemeinen die gleiche wie dort; die Kolonien weichen jedoch wesentlich dadurch ab, dass die Umgrenzungslinie nicht mehr so scharf ist. Nach 2 Monaten ist diese durch Auswüchse sehr unregelmässig; nach 3 Monaten erscheinen die Kolonien durch die Auswüchse Bäumchen ähnlich. Keine Verflüssigung.

No. 4.

Die Kultur unterscheidet sich von No. 1 und No. 3 vor allem durch ihr Vermögen, sehr rasch Gelatine zu verflüssigen.[1])

Würzegelatine ungehopft.

Sowohl auf der Oberfläche als auch im Stichkanal ist das Wachstum gut und reicht hier bis in eine Tiefe von 28 mm. Die scharf abgegrenzten kugelförmigen bis ellipsoidischen Kolonien in dem unteren Teil des Stichkanals sind meist isoliert. Im oberen Teil des Stichkanals sind die Kolonien gestielt. Auch nach 3 Monate langer Beobachtungsdauer ist die Umgrenzung der Kolonien noch regelmässig. Nach 2 Monaten ist der Stichkanal durch Verflüssigung erweitert.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Das Wachstum ist wie bei Würzegelatine ungehopft gut; jedoch tritt schon nach 18 Tagen Verflüssigung ein.

[1]) Vergl. H. Will, Studien über die Proteolyse durch Hefen. I. Mitteilg., Zeitschr. Brauwesen 1898, 21 S. 127. II. Mitteilg., ebenda 1901, 24 S. 113.

Die isolierten Kolonien erscheinen nach 2 Monaten noch regelmässig umgrenzt.

Würzegelatine gehopft und Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose.

Das Oberflächenwachstum und das Wachstum im Stichkanal ist wie bei Würzegelatine ungehopft. Verflüssigung ist nach 33 Tagen zu beobachten.

Kartoffelwassergelatine.

Sowohl das Oberflächenwachstum als auch das Wachstum im Stichkanal ist mässig. Die Kolonien sind klein, meist isoliert und regelmässig. Schon nach 18 Tagen tritt Verflüssigung ein, die jedoch wegen der starken Eintrocknung der Gelatine langsam vorwärts schreitet. Nach 2 Monaten ist die Umgrenzungslinie der Kolonien noch regelmässig.

Gelbrübenwassergelatine.

Die Entwicklung im Stichkanal ist gering. Die isolierten Kolonien sind auch nach 2 Monaten noch kugelförmig und regelmässig begrenzt. Schon nach 18 Tagen ist im oberen Teil des Stichkanals Verflüssigung eingetreten, während sie nach 33 Tagen weit vorgeschritten erscheint.

Weissrübenwassergelatine.

Das Wachstum ist gering. Die Form und Begrenzung der Kolonien ist wie auf den früher behandelten Nährböden. Nach 2 Monaten sind die regelmässig begrenzten Kolonien von einem hellen Hof umgeben. Verflüssigung ist nicht zu beachten.

Weisskrautwassergelatine.

Auch auf diesem Nährboden ist das Wachstum gering. Die Kolonien sind klein, kugelförmig bis ellipsoidisch und scharf umgrenzt. Die scharfe Umgrenzung der Kolonien ist auch nach 2 Monaten noch zu beobachten. Verflüssigung tritt schon nach 18 Tagen ein, die jedoch nur sehr langsam vorwärts schreitet.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Die Entwicklung im Stichkanal ist gut und reicht bis zu 35 mm in die Gelatine hinein.

Die im oberen Teil des Stichkanals befindlichen isolierten Kolonien sind nicht scharf umgrenzt. Nach 18 Tagen ist bereits Verflüssigung eingetreten, die nach 3 Monaten die ganze Gelatine erfasst hat.

Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

Das Wachstum ist sehr mässig. Die isolierten Kolonien sind sehr klein, kugelförmig bis ellipsoidisch und scharf umgrenzt, während nach 2 Monaten die Umgrenzungslinie nicht mehr so scharf ist. Verflüssigung tritt nach 33 Tagen ein, die jedoch wegen der starken Austrocknung der Gelatine nicht weiter fortschreitet.

No. 7.

Diese Form unterscheidet sich von No. 1 und No. 3 ebenfalls durch ihre verhältnismässig rasche Verflüssigung der Gelatine. Das Verflüssigungsvermögen ist etwa gleich stark wie dasjenige von No. 4.

Würzegelatine ungehopft.

Während der Oberflächenbelag sehr gut entwickelt ist, erscheint das Wachstum im Stichkanal mässig, reicht aber doch bis zu 41 mm in die Gelatine hinein. Die Kolonien sind kleiner als bei den vorhergenannten 3 Formen, sind aber auch kugelförmig bis ellipsoidisch, scharf umgrenzt und bleiben es auch während 3 Monate langer Beobachtungsdauer. Verflüssigung tritt erst nach 43 Tagen ein.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Das Wachstum ist gleich demjenigen in Würzegelatine ungehopft, ebenso das Aussehen der Kolonien, nach 33 Tagen ist hier jedoch bereits schwache Verflüssigung zu beobachten.

Würzegelatine gehopft.

Auch hier ist das Wachstum das gleiche wie in Würzegelatine ungehopft. Verflüssigung ist nach 33 Tagen zu beobachten, jedoch geht dieselbe während der weiteren

Beobachtungsdauer rascher vorwärts als in Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose.

Auf diesem Nährboden ist ein geringes Wachstum zu verzeichnen. Die Grösse und Form der Kolonien ist wie auf den vorhergehenden Nährböden. Hier tritt bereits nach 18 Tagen Verflüssigung ein, die jedoch im weiteren Verlauf ungefähr gleichen Schritt mit derjenigen in Würzegelatine gehopft hält.

Kartoffelwassergelatine.

Das Wachstum sowohl auf der Oberfläche als auch im Stichkanal ist mässig. Die Kolonien sind sehr klein, ihre Form kugelig bis ellipsoidisch; sie sind scharf umgrenzt. Nach 33 Tagen tritt sehr schwache Verflüssigung ein, die jedoch wegen der starken Eintrocknung der Gelatine nicht weiter vorschreitet.

Gelbrübenwassergelatine.

Sowohl auf der Oberfläche als auch im Stichkanal ist das Wachstum mässig. Die Kolonien sind grösser als in Kartoffelwassergelatine, zeigen aber, was Form und Umgrenzung betrifft, die gleichen Erscheinungen, wie dort. Verflüssigung tritt bereits nach 18 Tagen ein, die nach 3 Monaten nahezu vollständig ist.

Weissrübenwassergelatine.

Das Wachstum ist gering. Die Kolonien sind sehr klein, kugelförmig bis ellipsoidisch und regelmässig begrenzt. Es tritt bereits nach 18 Tagen Verflüssigung ein, die aber wegen der starken Eintrocknung der Gelatine nicht weiter vorschreitet.

Weisskrautwassergelatine.

Auch hier ist nur ein geringes Wachstum zu verzeichnen; die Kolonien sind sehr klein und regelmässig begrenzt. Verflüssigung tritt bereits nach 18 Tagen ein, die aber kaum vorwärts schreitet, da die Gelatine sehr stark eintrocknet. Nach 2 Monaten ist der Stichkanal sackartig erweitert und es hat sich dort Hefe angesammelt.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Das Wachstum ist mässig. Die isolierten Kolonien im unteren Teil des Stichkanals sind ziemlich gross, kugelförmig bis ellipsoidisch und scharf umgrenzt. Schon nach 18 Tagen ist mässige Verflüssigung zu beobachten, die rasch vorwärts schreitet und nach 3 Monaten fast vollständig ist.

Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

Das Wachstum ist hier nicht so gut als in Hefenwassergelatine + 3% Dextrose; jedoch sind die isolierten Kolonien auch gross und regelmässig. Verflüssigung tritt nach 33 Tagen ein, schreitet aber wegen der starken Eintrocknung der Gelatine nicht weiter vor. Nach 2 Monaten ist die Umgrenzungslinie der Kolonien nicht mehr regelmässig.

Wenn man von den Erscheinungen, welche durch die verschiedene Zusammensetzung und damit von dem verschiedenen Nährwert bedingt sind, absieht, so ergibt sich, dass ein Wachstum noch in verhältnismässig grosser Tiefe des Stichkanals stattfindet. Ob der Nährboden günstig oder ungünstig für das Wachstum überhaupt ist, hat auf die Tiefe, bis zu welcher ein Wachstum im Stichkanal erfolgt, keinen wesentlichen Einfluss. So geht beispielsweise bei der Form 1 in Weissrübenwassergelatine, welche für das Wachstum nicht günstig ist, das Wachstum im Stichkanal bis zu 41 mm hinab, bei Gelbrübenwassergelatine bis zu $^2/_3$ der Gelatineschicht, in anderen Fällen, in welchen der Nährboden nicht günstig ist, erscheint Wachstum nur in den oberen Partien des Stichkanals. Zu berücksichtigen ist auch, dass es bei Anlage der Stichkulturen naturgemäss nicht immer gelingt grössere Mengen von Zellen bis an das Ende des Stichkanals zu bringen, ja es ist denkbar, dass der eindringende Platindraht schon in verhältnismässig geringer Tiefe frei von Zellen sein kann. Jedenfalls geben die Kulturen mit gleichmässiger Verteilung der Zellen im Nährboden, welche im folgenden Abschnitt behandelt werden sollen, ein zutreffenderes Bild

von dem Grad der Luftentziehung, welche jene ertragen können, bezw. von der Sauerstoffspannung, bei welcher sie sich noch zu vermehren vermögen, also ihre vegetativen Funktionen noch auszuüben vermögen. Aus den Ergebnissen der Stichkulturen kann allerdings im vorliegenden Falle schon geschlossen werden, dass die untersuchten Apiculatusformen im allgemeinen unter den gegebenen Bedingungen noch bei ziemlich weitgehender Luftbeschränkung zu wachsen vermögen. Bei No. 4 und No. 7 ist jedoch das Wachstum im Stichkanal sichtlich etwas schwächer als bei No. 1 und No. 3, woraus auf eine grössere Empfindlichkeit von No. 4 und 7 gegen Sauerstoffentzug geschlossen werden darf. Noch schärfer kommt es in den Kulturen mit gleichmässiger Verteilung der Einsaat in den festen Nährböden zum Ausdruck. Isolierte Kolonien erscheinen mehr oder weniger kugelförmig bis ellipsoidisch mit scharfer Umgrenzung. Manchmal erscheinen sie wie gestielt. Nur selten ändern sie nachträglich durch Auswachsen ihre Form, indem sie unregelmässig werden, im äussersten Falle Bäumchenform annehmen. Die Kolonien von No. 1 und 4 wuchsen nicht aus, nur vereinzelt diejenigen von No. 7, häufig diejenigen von No. 3. Die grössere Neigung der Kolonien von Form 3 in den Stichkulturen unregelmässig zu werden, auszuwachsen, ist so scharf ausgeprägt, dass diese Eigenschaft geradezu als diagnostisches Merkmal angesehen werden darf. Das Vermögen der Gelatineverflüssigung ist im allgemeinen bei allen 4 Formen gering. In den für die Entwicklung günstigen Nährböden tritt im allgemeinen keine Verflüssigung ein oder langsam. No. 4 und 7 verflüssigen die Gelatine im allgemeinen rascher als No. 1 und 3. Die Beschleunigung der Verflüssigung ist bei No. 4 und 7 so scharf aufgeprägt, dass sie als unterscheidendes Merkmal innerhalb der beiden Gruppen von Apiculatusformen von Wert ist. Das Verflüssigungsvermögen von No. 4 und 7 ist etwa gleichstark. Die Stärke des Verflüssigungsvermögen ist also eine Arteigentümlichkeit und wird von der Zusammensetzung des Nährbodens beeinflusst. Weniger

günstige Zusammensetzung führt raschere Verflüssigung[1]) herbei.

Wachstumserscheinungen in festen Nährböden bei gleichmässiger Verteilung der Zellen in diesen.

Auch diese Kulturen bieten, ebenso wie die Stichkulturen, diagnostische Merkmale. Die Befähigung zum Wachstum bei beschränktem Luftzutritt kommt aber hier noch schärfer zum Ausdruck als bei den Stichkulturen. Angelegt wurden die Kulturen in folgender Weise: Mittels einer Platinöse wurde ein kleiner Tropfen einer bei 25° C in gehopfter Würze + 3% Dextrose während 2 Tagen herangewachsenen Kultur in die betreffende verflüssigte Gelatine gebracht und hierauf mit dieser so gleichmässig als möglich vermischt. Nach dem Mischen brachte man die Gelatine sofort zum Erstarren und stellte die Kulturen wie die Stichkulturen im Laboratorium auf. Die Höhe der Gelatinschicht war die gleiche wie bei den Stichkulturen. Im Laufe der Zeit wurden folgende Beobachtungen gemacht:

No. 1.

Würzegelatine ungehopft.

In der ganzen Gelatine sind Kolonien zur Entwicklung gekommen; die Zone des stärksten Wachstums ist ungefähr 5 mm breit. Die Kolonien auf und nahe der Oberfläche sind grösser als die in der Gelatine eingeschlossenen. Der Oberflächenbelag ist noch nicht geschlossen. Die Umgrenzung der Kolonien ist anfangs regelmässig, während sie bei der Kontrolle nach 49 Tagen unregelmässig erscheint. Verflüssigung ist nicht zu beobachten.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Auf diesem Nährboden ist das Wachstum wieder etwas stärker als auf dem vorhergehenden. Dieses zeigte sich dadurch, dass sich die Kolonien auf der Oberfläche nach 2 Monaten zu einem geschlossenen Belag vereinigt hatten.

[1]) Vgl. H. Will, Studien über die Proteolyse durch Hefen, a. a. O.

Im Uebrigen sind die Wachstumserscheinungen die gleichen wie in Würzegelatine ungehopft.

Würzegelatine gehopft.

Wachstumsstärke wie Wachstumserscheinungen sind die gleichen wie in Würzegelatine ungehopft.

Würzegelatine gehopft + 3 % Dextrose.

Die Wachstumserscheinungen sind die gleichen wie in Würzegelatine gehopft, jedoch tritt bei diesem Nährboden nach 2 Monaten Verflüssigung ein.

Kartoffelwassergelatine.

Auch hier ist das Wachstum das gleiche wie in Würzegelatine ungehopft. Es sind im unteren Teil der Gelatine infolge der Durchsichtigkeit des Nährbodens die Kolonien sehr deutlich sichtbar. Nach 49 Tagen ist die Oberfläche der Kolonien nicht mehr regelmässig, jedoch im Gegensatz zu den Kolonien in Würzegelatine ungehopft noch schärfer begrenzt. Die in der Gelatine eingeschlossenen Kolonien sind regelmässig begrenzt. Infolge starker Eintrocknung der Gelatine ist keine Verflüssigung zu beobachten.

Gelbrübenwassergelatine.

Das Wachstum ist das gleiche wie in Kartoffelwassergelatine. Nach 2 Monaten tritt Verflüssigung ein, die aber nur sehr langsam vorwärts schreitet.

Weissrübenwassergelatine.

Die Verteilung der Kolonien in der Gelatine ist die gleiche wie in Würzegelatine ungehopft, jedoch ist das Wachstum hier nicht so stark. Die Zone stärksten Wachstums ist ungefähr 2 mm breit. Verflüssigung tritt erst nach 2 Monaten ein, schreitet aber infolge starker Austrocknung der Gelatine nicht weiter vor.

Weisskrautwassergelatine.

Die Wachstumsstärke und die Wachstumserscheinungen sind die gleichen wie in Würzegelatine ungehopft. Die Zone des stärksten Wachstums beträgt ungefähr 1 cm. Selbst in dem untersten Teil der Gelatine sind noch kleine Kolonien sichtbar.

Hefenwassergelatine + 3% Dextrose.

Dieser Nährboden eignet sich für länger andauernde Beobachtungen über die Wachstumserscheinungen und deren etwa auftretenden Veränderungen nicht gut, da bereits nach 35 Tagen schon weiter vorgeschrittene Verflüssigung zu beobachten war. Nach 3 Monaten ist die Gelatine zu ungefähr $^3/_4$ verflüssigt und zwar dünnflüssig.

Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

Hinsichtlich der Entwicklung steht die Kultur in diesem Nährboden weit hinter den anderen zurück. Die Kolonien sind klein, aber auch bis in die untersten Teile der Gelatine verteilt. Die Zone stärksten Wachstums beträgt ungefähr 1 mm.

No. 3.

Zwischen No. 1 und 3 besteht ein wesentlicher Unterschied hinsichtlich des Wachstums. No. 1 ist besser entwickelt und verträgt offenbar mehr Luftentziehung wie No. 3.

Würzegelatine ungehopft.

Die Kulturen sind schwächer entwickelt als bei No. 1, zeigen aber im übrigen dieselben Erscheinungen. Infolge des geringen Wachstums ist die Zone des stärkeren Sauerstoffeinflusses nicht so stark ausgeprägt und sichtlich schmäler als bei No. 1. Im untersten Teil der Gelatine sind kleine Kolonien vorhanden.

Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose.

Es zeigen sich die gleichen Wachstumserscheinungen wie in den vorhergehenden Nährböden, nur ist das Wachstum auf der Oberfläche besser. Nach 2 Monaten haben sich die Kolonien zu einem geschlossenen Belag vereinigt.

Würzegelatine gehopft, Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose, Kartoffelwasser-, Gelbrübenwasser-, Weisskrautwasser-, Hefenwasser- + 3% Dextrose und Hefenwassergelatine + 3% Saccharose.

In diesen Nährböden zeigen sich immer wieder dieselben Wachstumserscheinungen wie in Würzegelatine un-

gehopft, nur dass in den weniger günstigen Nährböden das Wachstum gering erscheint und besonders in Hefenwassergelatine + 3% Dextrose die Verflüssigung viel stärker ist, als in den anderen Gelatinen.

No. 4.

Diese Kultur unterscheidet sich von No. 1 und 3 dadurch, dass sie in den unteren Teilen der Nährgelatine nicht zu wachsen vermag. Kolonien fehlen hier unter den gleichen Bedingungen wie bei No. 1 und 3 vollständig. Wachstum ist in allen bei No. 1 und 3 verwendeten Nährböden nur in den oberen Partien in einer Zone von etwa 2—3 mm Breite sichtbar. Sie macht also, wie auch aus dem Verhalten in den Stichkulturen zu schliessen war, in Bezug auf Sauerstoff grössere Ansprüche, als jene Kulturen. Auch hier ist wie bei den Stichkulturen ein stärkeres Verflüssigungsvermögen von No. 4 und 7 als bei No. 1 und 3 zu beobachten. Abgesehen von der verschiedenen Stärke des Wachstums und der verschiedenen raschen Verflüssigung der Gelatine, Eigenschaften, welche schon bei den Riesenkolonien und bei den Stichkulturen näher erläutert wurden, stimmen die Wachstumserscheinungen in den einzelnen Nährböden überein. Eine grössere Neigung der anfangs regelmässigen Kolonien zum Auswachsen, wie sie in den Stichkulturen hervortrat, wurde bei den Kulturen mit gleichmässiger Verteilung der Einsaat in den Nährböden nicht beobachtet.

No. 7.

Auch diese Kultur unterscheidet sich von No. 1 und 3 dadurch, dass sie in dem unteren Teil der Gelatine nicht zu wachsen vermag. Verflüssigung konnte wegen der starken Eintrocknung der Gelatine nur bei einigen Nährböden beobachtet werden. Die Zone des stärksten Wachstums ist nicht so kräftig wie bei No. 4, im übrigen stimmen aber die Wachstumserscheinungen auf allen Nährböden mit denjenigen von No. 4 überein.

In den Kolonien mit gleichmässiger Verteilung der Zellen traten also im allgemeinen die gleichen, die ein-

zelnen Formen gut charakterisierenden Erscheinungen, wie in den Stichkulturen auf. Die schon in den Stichkulturen beobachtete grössere Empfindlichkeit der Formen No. 4 und 7 gegen Sauerstoffentzug war noch schärfer als bei den Stichkulturen ausgeprägt.

Sporenbildung.

Nachdem die Hauptfrage, von welcher die systematische Stellung der Apiculatushefen abhängt, die Frage, ob sie Sporen zu bilden vermögen oder nicht, schon in der Einleitung eingehend erörtert und über die Erfolglosigkeit unserer eigenen Untersuchungen berichtet wurde, bleibt nur übrig, über unsere Versuchsanstellung selbst eine kurze Mitteilung zu machen.

Das Bestreben ging dahin, möglichst kräftige Zellen heranzuzüchten und diese dann nach dem Verfahren, welche sich bei verschiedenen Gelegenheiten zur Anregung der Sporenbildung bewährt hatten, zu behandeln. So wurden in erster Linie folgende Nährlösungen zur Heranzüchtung verwendet: Würze gehopft + 3% Dextrose, Würze gehopft + 1% Pepton, mit und ohne Zusatz von Dextrose und Most.

Die kräftig herangewachsenen Kulturen wurden auf Gipsblöcke gebracht, welche wie gewöhnlich mit sterilem Leitungswasser, ausserdem auf Gipsblöcke, welche mit Gipswasser, ferner mit Würze + 3% Dextrose und Most getränkt waren. Auch auf Möhren- und Kartoffelscheiben konnten die 4 Apiculatushefen nicht zur Sporulation gebracht werden.

Ferner wurde das schon in der Einleitung erwähnte Verfahren von Röhling[1]) benützt, jedoch ohne Erfolg. Die Kulturen auf festen Nährböden (hauptsächlich Riesenkolonien) wurden sorgfältig auf etwaige Sporenbildung untersucht. Auch ältere Kulturen, insbesondere solche mit Hautbildung wurden nach Sporen durchmustert; in keinem Falle traten jedoch irgend welche Gebilde auf, die den Eindruck von Sporen hervorgerufen hätten. Dazwischen

[1]) Vgl. Röhling, a. a. O.

zeigten sich wohl grössere, stark lichtbrechende Körperchen, die sich aber jedesmal als Fettröpfchen erwiesen, denn sie färbten sich mit Osmiumsäure dunkelbraun. Um aber ganz sicher zu sein, dass Sporen nicht in Frage kamen, wurden mit solchen Zellen Tröpfchenkulturen in Würze + 3% Dextrose, Most und Pferdemistdekokt, + 3% Dextrose, angelegt[1]), die bei Zimmertemperatur standen. Die stark lichtbrechenden Körperchen blieben jedoch unverändert.

Die Zellen des Sacch. apiculatus enthalten ziemlich dicke, runde, stark lichtbrechende Körperchen meistens in der Einzahl. Diese Körperchen haben eine gewisse Aehnlichkeit mit Sporen. Sie lassen sich färben und zwar nach einigen Verfahren, welche zur Färbung von Sporen angewendet werden. Man kann oft feststellen, dass sie mit der Wandung der Zelle durch kurze Plasmafäden verbunden sind. Ihr Inhalt ist sicher fettartiger Natur; ihre Form ist sehr empfindlich gegenüber der Einwirkung von Osmiumsäure. Dieses Reagenz erteilt ihnen ausserdem manchmal eine bräunliche Färbung. Manchmal gelang es, sie in Benzol in der Weise zu lösen, dass sie die ganze Zelle mit homogener Substanz erfüllten. In grösserer Zahl treten die hellen Körper in der Phase des Hungerzustandes auf; sicher sind sie die Vorläufer des Absterbens der Zelle. Keinesfalls dürfen sie als Sporen angesprochen werden.

B. Biologisches und Physiologisches.

1. Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten.

Das Verhalten der Apiculatushefen gegen die verschiedenen Zuckerarten hat schon sehr frühzeitig Interesse erregt.

Emil Chr. Hansen[2]) hat zuerst darauf hingewiesen, dass der Sacch. apiculatus kein Invertin bildet und dass

[1]) Röhling a. a. O.

[2]) Hansen, Emil Ghr., Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques I. Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature. Compt. rend. Carlsberg, Laborat. Bd. 1, 1881, S. 159.

er infolgedessen auch Rohrzucker nicht zu vergären und zu verwerten vermag. Ebensowenig spaltet er Maltose in Alkohol und Kohlensäure. Dagegen ruft er in Dextroselösungen ziemlich lebhafte Gärung hervor.

Der Mangel an Invertin und die Unvergärbarkeit von Maltose wurde von allen späteren Beobachtern wie Amthor (a. a. O.) und anderen bestätigt. Dieser empfahl schon wie später Bau[1]) die Verwendung des Sacch. apiculatus zur Bestimmung der neben Maltose in Würze vorhandenen Zuckerarten.

Schukow[2]) bemerkt, dass Sacch. apiculatus wahrscheinlich nur Dextrose vergärt.

Klöcker[3]) vermochte früher nicht den Sacch. apiculatus an die Inversion zu gewöhnen. Im Jahre 1910 teilte er aber kurz mit,[4]) dass er bei einigen Vegetationen, welche nur als Sacch. apiculatus bezeichnet werden können, die Gegenwart von Invertin und zugleich Vergärung von Saccharose nach Inversion habe feststellen können. Aus einer späteren ausführlicheren Mitteilung[5]) geht hervor, dass es sich um 9 in Erdproben aus den Tropen aufgefundenen Arten von Apiculatusformen, welche beschrieben werden, handelt. Während 8 Arten ziemlich grosse Mengen Alkohol in einer Saccharoselösung erzeugen, vermag einer nur eine Spur zu bilden.

Hansen, Emil Chr. Ueber Saccharomyces apiculatus. Hedwigia 1886, S. 75.

Hansen, Emil Chr. Actions des ferments alcooliques sur les diverses espèces de sucre. Compt. rend. Carlsberg Laborat. Bd. 22, 1888, S. 150.

[1]) Bau A., Die Bestimmung von Maltose, Dextrose und Dextrin in Bierwürze und Bier mittels Reinkulturen von Gärungsorganismen. Centralbl. Bakteriol. Bd. 9, 1891, S. 825. Wochenschr. für Brauerei, 1891, 8. S. 509.

[2]) Schukow J., Gär- und Konkurrenzversuche mit verschied. Hefen. Wochenschr. f. Brauerei, 1896, 13, S. 302.

[3]) Klöcker A. Ist die Enzymbildung bei den Alkoholgärungspilzen ein verwertbares Artmerkmal. Centralbl. Bakter. Abt. II, Bd. 6, 1900, S. 241,

[4]) Klöcker A. Invertin und Sporenbildung bei Sacch. Apiculatusformen. Centralbl. Bakteriol. Abt. II, Bd. 26, 1910, S. 513.

[5]) Klöcker A. Beschreibung von 17 Sacch. Apiculatusformen. Centralbl. Bakteriol. Abt. II, Bd. 35, 1912. S. 375.

Im Jahre 1911, als unsere Untersuchungen schon abgeschlossen waren, zeigte Klöcker[1]), dass gewisse Formen von Saccharomyces apiculatus befähigt sind, geringe Mengen von Maltose zu vergären. Mittels des von ihm beschriebenen Verfahrens zum Nachweis kleiner Mengen von Alkohol erhielt er, wenn die Hefen im Hefenwasser mit einem Zusatz von Maltose eingeimpft waren, eine scharf ausgesprochene Reaktion auf Alkohol. Besonders bemerkenswert für uns ist, dass die Alkoholbildung am energischten und raschesten nach ungefähr 5 Tagen erfolgte, wenn das Aussaatmaterial in Hefenwasser mit einem Zusatz von Dextrose herangezüchtet war.

Aus der im Jahre 1912 erschienenen Mitteilung (a. a. O.) erhellt, dass von den beschriebenen 17 Arten 11 Maltose, allerdings nur in sehr kleinen Mengen zu vergären vermögen.

Ueber die Vergärung von d- Galaktose durch Sacch. apiculatus gehen die Meinungen auseinander.

Voit[2]), Fischer und Thierfelder[3]), Bau[4]) und Armstrong[5]) stimmen darin überein, dass Sacch. apiculatus d- Galaktose nicht vergären kann. Henneberg[6]) beobachtete Gärung in Galaktose-Hefenwasser. In seinem Buch: Gärungsbakteriologisches Praktikum. (Berlin, P. Parey 1909, S. 439) gibt er aber an, dass Galaktose vom

[1]) Klöckner A. Méthode pour reconnaître de petites quantités d'alcool dans les liquides en fermentation et quelques resultats qu'elle a permis d'obtenir. Compt. rend. Carlsberg. Laborat. Bd. 10, 1911, S. 113.

[2]) Voit Fritz. Über das Verhalten der Galaktose beim Diabetiker. Zeitschr. f. Biologie 1892, Bd. 29, S. 147.

[3]) Fischer E. und Thierfelder, Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefen. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. 27, 1894 S. 2031.

[4]) Bau A. Ueber die Vergärbarkeit der Galaktose, Zeitschrift Spirit. Ind. 1896, 19, S. 303.

[5]) Armstrong Ed., Frankl, Studies on enzyme action. VIII. The mechanisme of fermentation. Proc. Roy. Sos. of London. B. Vol. 76, 1905, S. 600.

[6]) Henneberg W. Notiz zum Vorkommen von Clykogen bei Hefen Sacch. apiculatus. Wochenschr. f. Brauerei 1902, 19, S. 781.

Sacch. apiculatus nicht vergoren wird. Lindner[1]) hat mehrere Apiculatusformen untersucht, von welchen einige, wenn auch nur schwer Galaktose vergoren. Cremer[2]) gibt an, dass d- Galaktose nicht oder kaum vergoren wird. Cremer[3]) hat ausserdem zuerst gezeigt, dass Sacch. apiculatus d-Manose vergären kann, was später beispielsweise durch Armstrong (a. a. O.) bestätigt wurde. Von Lindner[4]) und Rose untersuchte Stämme von Sacch. apiculatus waren aber nicht befähigt, jene Zuckerart zu vergären, dagegen tun dies alle von Klöcker beschriebenen Arten.

In der angeführten Literatur finden sich auch mehrfach noch Angaben über die Einwirkung von Sacch. Apiculatus auf andere Zuckerarten, Inulin und Dextrin. Prior und Wiegmann[5]) prüften Achroodextrin III. Als durch Sacch. apiculatus vergärbar wird ausser den oben genannten Zuckerarten d- Fruktose (Armstrong, Henneberg, Klöcker, Lindner, Rose) angegeben.

Meine Versuche erstreckten sich nur auf Dextrose, Galaktose, Fruktose, Maltose, Saccharose, Milchzucker und Raffinose. Durch sie sollte festgestellt werden:

1. Welche Zucker angegriffen werden.
2. Ob sie dabei in Alkohol und Kohlensäure gespalten oder ob sie nur assimiliert werden, oder ob beides zugleich stattfindet.

Zunächst wurden die Zucker nach der Kleingärmethode von P. Lindner geprüft.

---

[1]) Lindner P. Gärversuche mit verschiedenen Hefen und Zukkerarten. Wochenschr. f. Brauerei 1900, 17, S. 713.

[2]) Cremer M. Ueber das Verhalten einiger Zuckerarten im tierischen Organismus. Zeitschrift f. Biol., Bd. 29, 1892, S. 484.

[3]) Cremer M. Ueber die Umlagerung der Zuckerarten unter dem Einfluss von Ferment und Zelle; ein Beitrag zur Lehre von der Glykogenie und Gärung. Zeitschr. f. Biol., Bd. 31, 1895, S. 183.

[4]) Rose L. Beiträge z. Kenntn. d. Organismen im Eichenschleimfluss. Wochenschr. f. Brauer. 1910, 27, S. 592.

[5]) Prior und Wiegmann. Darstellung und Eigenschaften des Diastase-Achroodextrins. III. Zeitschr. ang. Chemie 1900 ,S. 464.

Als Nährlösung diente neutrales Hefenwasser nach der Vorschrift von Will, zu dem verschiedene Zucker in der üblichen Weise zugesetzt wurden. Das Aussaatmaterial, das auf schräg erstarrter Würzegelatine + 3% Dextrose herangezüchtet wurde, war 14 Tage alt, als es zu der Kleingärmethode verwendet wurde. Durchführung der Kleingärmethode siehe Will, Biologische Untersuchungen und Begutachtungen von Bierwürze etc. Seite 76.

Der Versuch wurde 2mal mit Parallelversuchen bei 25° C angestellt.

Die Ergebnisse sind in nachfolgender Tabelle auf Seite 124 zusammengefasst.

Auffällig erschien, dass sich beim ersten Versuch, welcher 9 Tage lang beobachtet wurde, bei Maltose, Saccharose, Milchzucker und Raffinose, teilweise schon am 4. Tage kleine Gasbläschen bemerkbar machten, welche auf eine alkoholische Gärung hinzudeuten schienen. Die Prüfung auf Kohlendioxyd durch Zufliessenlassen von Kalilauge ergab aber ein negatives Ergebnis; die kleinen Bläschen wurden nicht absorbiert.

Ob Luft in die Kulturen, welche sich als rein erwiesen, eingedrungen war, oder ob ein gasförmiges Spaltungsprodukt vorlag, liess sich nicht entscheiden.

Bei Wiederholung des Versuches, in welchem schon nach 24 Stunden in den meisten Fällen eine starke Gärung auftrat, blieb auch bei mehrtägiger Beobachtung Gasbildung bei Maltose, Saccharose, Milchzucker und Raffinose aus. Die Ergebnisse der Kleingärmethode wurden durch Versuche in grösserem Masstabe ergänzt, da jene nach den Untersuchungen von Will[1]) und seinen Schülern nur zu orientierenden Versuchen geeignet ist.

Der Versuch wurde in der Weise durchgeführt, dass in Pasteur-Kölbchen von 200 ccm Fassungsvermögen je

[1]) H. Will, Anleitung u. s. w. S. 76. Vergl. hiezu auch die Kritik der Kleingärmethode in der Mitteilung von
Alb. Klöcker, Méthodes pour reconnaitre de petites quantités d'alcool etc. Compt. rend. Laborat. Carlsberg, Bd. 10, 1911, p. 108; Aussi, cette Kleingärmethode a-t-elle été, de plusieurs côtés d'autres experimentateurs d'ont démontré, elle n'est certainement pas utilisable dans tous les cas

	No. 1		No. 3		No. 4		No. 7	
	1 Tg.	4 Tg.	1 Tg.	4 Tg.	1 Tg.	4 Tg.	1 Tg.	4 Tg.
Dextrose	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
Galaktose	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+2
	+2	+1	+1	+1	+2	+1	+2	+2
Fruktose	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
Laevulose	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
Maltose	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—
Milchzucker	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—
Saccharose	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—
Raffinose	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—

Es bedeutet + = Vergärung.

— = Keine Vergärung.

Der Exponent an dem Zeichen + bedeutet:

1 = Starke Gärung ext. Nach 24 Stunden ist die ganze Vertiefung des Objektträgers von einer Gasblase erfüllt.

2 = Mässige Gärung. Desgl. die Vertiefung des Objektträgers nur zur Hälfte von einer Gasblase erfüllt.

3 = Geringe Gärung. In der Flüssigkeit in der Vertiefung des Objektträgers nach 24 Stunden sehr kleine Gasblasen.

4 = Sehr geringe Gärung. Nach längstens 4 Tagen Gasblasen in der Flüssigkeit.

100 ccm der 6 prozentigen Zuckerlösung in neutralem Hefenwasser eingefüllt und nach dem Sterilisieren mittels Kapillarröhrchen mit 2 Tropfen des in Würze mit Zusatz von 3% Dextrose während 3 Tage bei 25° C herangezüchteten Aussaatmateriales geimpft wurden. Es wurden je 8 Kölbchen, die mit der betreffenden Zuckerlösung gefüllt waren, mit der gleichen Kultur geimpft. Die Sterilität der Zuckerlösung in den Pasteur-Kolben war durch mehrtägige Beobachtung festgestellt worden. Geprüft wurden die gleichen Zucker, wie bei der Kleingärmethode. Die geimpften Kulturen wurden im Laboratorium (durchschnittlich 20° C) aufgestellt und während 2 Monaten beobachtet.

Nachdem in zwei ungeimpften Kölbchen die vorhandene Menge des gelösten Zuckers bestimmt worden war, wurde jene in den mit den verschiedenen Apiculatusformen geimpften Kölbchen nach Verlauf von 14 Tagen, ein und zwei Monaten wiederholt bestimmt, wobei jedesmal zwei andere Kulturen (Doppelversuch) benützt wurden. Die in den Tabellen angegebenen Zahlen sind das Mittel aus zwei untersuchten Kulturen. Durch dieses, durch die Verhältnisse gebotenes Verfahren, erklären sich wohl teilweise kleine Unregelmässigkeiten, welche sich weniger bei der Bestimmung des Restzuckers als vielmehr in den Alkohol- und Säurebestimmungen ergaben. Zu berücksichtigen wäre hier auch noch, dass in älteren Kulturen ein Teil des gebildeten Alkohols und der Säuren von den Apiculatusformen wieder assimiliert worden sein kann.

Die Alkoholbestimmung geschah in der Weise, dass jedesmal der Inhalt von 2 Kölbchen, welcher zur Bestimmung des Zuckers gedient hatte, nach dem Neutralisieren der Lösung abdestiliert und refraktometrisch untersucht wurde. Ausserdem wurde in dem Destillat die Jodoformreaktion angestellt. Die Feststellung der erzeugten Säuremenge geschah mittels n/10 Natronlauge. Die in der Tabelle eingetragenen Zahlen (Mittelwerte) beziehen sich auf je 5 ccm titrierte Flüssigkeit. Jede der untersuchten Kulturen wurde auf Reinheit geprüft.

Tabelle Seite 126.

Restzucker.

No.	Dextrose			Galaktose			Fruktose			Maltose		
	14 Tg.	1 Monat	2 Monate	14 Tg.	1 Monat	2 Monate	14 Tg.	1 Monat	2 Monate	14 Tg.	1 Monat	2 Monate
Blinder Versuch	5,74 %			5,84 %			5,84 %			5,46 %		
1	0,16	0,14	0,122	3,48	3,26	3,14	0,316	0,29	0,25	5,16	5,02	4,74
3	0,09	0,09	0,112	3,30	3,24	3,108	0,236	0,21	0,24	4,95	4,59	4,05
4	0,21	0,15	0,11	3,30	3,276	3,154	0,334	0,30	0,28	5,34	4,57	4,50
7	1,396	1,172	0,448	3,40	3,252	2,864	0,463	0,28	0,35	5,34	5,20	4,59
Verbrauchte $^{n}/_{10}$ NaOH 5 ccm Flüssigkeit												
1	0,5	0,7	0,8	0,7	1,0	0,8	0,5	0,7	0,8	0,3	0,35	0,35
3	0,9	1,9	0,9	0,6	1,0	1,0	0,9	1,0	1,1	0,3	0,3	0,45
4	0,7	1,0	0,6	0,7	0,9	0,9	0,8	0,8	0,7	0,3	0,3	0,3
7	0,8	1,2	1,2	0,7	0,9	0,9	1,0	1,0	1,1	0,3	0,35	0,5
Alkohol												
1	2,22 %	2,31 %	2,37 %	1,04 %	1,00 %	1,00 %	2,31 %	2,64 %	2,34 %	—	—	0,04 %
3	2,11	2,31	2,34	0,79	1,04	1,04	2,28	2,28	2,28	—	—	0,07
4	1,88	2,22	2,10	0,91	0,97	0,86	2,19	2,31	2,34	—	—	0,07
7	1,50	1,80	1,87	0,91	0,91	0,77	1,77	2,13	2,28	—	—	0,07

Saccharose, Milchzucker und Raffinose werden weder vergoren noch assimiliert. Die Ergebnisse der Analyse sind also in den Tabellen unberücksichtigt geblieben. Die Triosen und die Biosaccharide werden unter den gegebenen Bedingungen von den 4 Apiculatusformen nicht angegriffen. Ausgenommen hiervon ist die Maltose. Dieses Ergebnis ist in Hinsicht auf die meisten der früheren Angaben über die Unvergärbarkeit der Maltose durch Saccharomyces apiculatus wichtig. Ob in unseren Versuchen die Maltose von den 4 Apiculatusformen nur assimiliert, aber nicht vergoren wurde, lässt sich nicht entscheiden. Jodoformreaktion wurde in dem Destilat nicht erhalten. Die bei der Alkoholbestimmung erhaltenen refraktometrischen Werte sind zu gering und können auch durch andere flüchtige Umsetzungsprodukte (vielleicht flüchtige Säuren und Ester; diese entstehen unter den verschiedensten Bedingungen. Besonders machte sich die Bildung wohlriechender Ester bei den Riesenkolonien, welche im geschlossenen Panom'schen Thermostaten aufgestellt waren, bemerkbar) der 4 Apiculatusformen in der Maltoselösung als durch Alkohol bedingt sein. Möglicherweise würden wir zu einem positiven Ergebnisse gelangt sein, wenn uns bei dem durch äussere Verhältnisse schon vor längerer Zeit bedingten Abschluss der Versuche schon die ausführlichen Mitteilungen von Klöcker über sein Verfahren zur Bestimmung kleiner Alkoholmengen zur Verfügung gestanden hätte. Vielleicht würden dann auch die bei dem ersten Versuche mit der Kleingärmethode aufgetretenen Erscheinungen ihre Erklärung gefunden haben. Bemerkenswert ist jedenfalls auch, dass die Kulturen, welche die Maltose angriffen, in Uebereinstimmung mit Klöckers Versuchen in Dextrosehaltiger Nährlösung herangezüchtet waren.

Die, wenn auch nur verhältnismässig geringe Vergärung von d-Galaktose durch die 4 Apiculatusformen würde diese gegenüber den bisher untersuchten besonders charakterisieren. Es muss jedoch berücksichtigt werden, worauf Klöcker jüngst aufmerksam gemacht, dass selbst reine käufliche Galaktosepräparate kleine Mengen von

Dextrose enthalten, die, wenn Täuschungen ausgeschlossen sein sollen, erst durch Vergärung entfernt werden müssen. Die zu unseren Versuchen verwendete Galaktose müsste dann, obwohl das Präparat von zuverlässiger Quelle bezogen und als „Purissimum“ bezeichnet war, allerdings viel Dextrose enthalten haben. Jedenfalls ist bei der geplanten Wiederholung der Versuche die etwaige Gegenwart von Dextrose in dem Galaktosepräparat zu berücksichtigen.

Aus der Alkoholtabelle ist ersichtlich, dass innerhalb des gleichen Zeitabschnittes unter den gleichen Bedingungen im allgemeinen bei Fruktose von sämtlichen 4 Apiculatusformen die grösste Alkoholmenge gefunden wurde; Dextrose bleibt in der Vergärung nur wenig hinter der Fruktose zurück. Die für Form 1 nach 2 Monaten für Dextrose enthaltenen Alkoholzahlen übertreffen sogar noch die für Fruktose enthaltenen um weniges. Am wenigsten wird jedenfalls Galaktose vergoren. Die Alkoholzahlen erreichen hier meist kaum die Hälfte der für Dextrose erhaltenen Werte.

Was die Gärkraft betrifft, so stehen die Formen No. 1, 3 und 4 auf ziemlich gleicher Stufe, während No. 7 langsamer im übrigen aber im allgemeinen ebenso weit wie die beiden anderen Formen vergärt. Eine Ausnahme bildet im vorliegenden Falle nur die Dextrose.

Aus der Tabelle „Restzucker“ ist ersichtlich, dass sowohl Dextrose als auch Fruktose nahezu vollständig, von der vorhandenen Galaktose aber nur etwas mehr als die Hälfte abgebaut wurde. Wie sich durch Rechnung ergibt, stimmt ungefähr das Verhältnis von Alkohol und Restzucker zu dem ursprünglichen Zuckergehalt.

Die 4 Apiculatusformen vergären also sicher Dextrose und Fruktose, wahrscheinlich Galaktose und Maltose, aber nicht Saccharose.

Aus der Tabelle „Säure“ ist nur ersichtlich, dass überhaupt während des Abbaues der Zucker Säure gebildet wurde. Die erhaltenen Werte sind zu gering, als dass hieraus weitergehende Schlussfolgerungen gezogen werden können.

Verhalten gegen Aethylalkohol.

Wie die Erfahrungen bei dem Studium der Torulaceen, der Mycodermen und anderer Sprosspilze ohne Sporenbildung ergeben haben, ist das Verhalten der Sprosspilze gegen Aethylalkohol geeignet, diese innerhalb eines Formenkreises in grössere Gruppen zu trennen.

Die Versuchsreihe bezweckte festzustellen, welche Mengen Alkohol die Entwicklung der 4 Apiculatushefen hemmen, ob der Alkohol assimiliert wird und welche Menge.

Als Nährböden dienten Hefenwasser + 5% Maltose und Peptonlösung + 5% Maltose mit verschiedenen Zusätzen von Alkohol. Maltose musste zugegeben werden, da sowohl in Hefenwasser allein, als auch in Peptonlösung allein kein Wachstum stattfindet und bei Maltosezusatz die Vermehrung eine ziemlich kräftige ist. Maltose, welche frei von Dextrose war, konnte ohne Schaden für den Versuch zugesetzt werden, da die Bildung von Alkohol, wie wir in dem Versuche „Verhalten gegen verschiedene Zucker" gezeigt haben, sehr gering ist. Der Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt:

In Pasteurkölbchen von 200 ccm Fassungsvermögen wurden 100 ccm der betreffenden Nährlösung gebracht und erhielten nach dem Sterilisieren einen Zusatz von 0,5; 1; 2; 3; 5; 7 und 10 ccm 96%igen Aethylalkohol.

Wie die refraktometrische Bestimmung des Alkohols im blinden Versuch zeigte, entsprach der Zusatz von

0,5	ccm	= 0,47%	Aethylalkohol,
1	„	= 0,84%	„
2	„	= 1,64%	„
3	„	= 2,58%	„
5	„	= 4,18%	„
7	„	= 5,09%	„
10	„	= 7,13%	„

Nachdem die Kolben einige Tage gestanden hatten, wurden sie mittels einer Kapillare mit 2 Tropfen aus der zwecks Verteilung des Bodensatzes in der Nährlösung gut durchgeschüttelten Kultur geimpft. Das Impfmaterial war

in gehopfter Würze mit Zusatz von 3% Dextrose während 2 Tage bei 25° C hergezüchtet worden. Die Kulturen wurden bei einer im Laboratorium durchschnittlichen Temperatur von 21° C aufgestellt und von Zeit zu Zeit auf die an ihnen auftretenden Wachstumserscheinungen beobachtet. Die wichtigsten Erscheinungen sind schon in dem Abschnitt „Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen verschiedener Nährlösungen" mitgeteilt worden, sodass auf jenen Abschnitt verwiesen werden kann.

Von Bedeutung für die Diagnose der 4 Apiculatusformen ist die durch die Versuchsreihe ermittelte Tatsache, dass die Entwicklungshemmung durch Alkohol für die 4 Apiculatusformen nicht die gleiche ist, wie aus der folgenden Tabelle (Mittelwerte zweier Bestimmungen) hervorgeht.

Peptonlösung + 5% Maltose,		Hefenwasser + 5% Maltose
No. 1	5.09% Alkohol,	5,09% Alkohol
„ 3	5,09% „	5,09% „
„ 4	4,18% „	4,18% „
„ 7	4,18% „	4,18% „

Eine Vermehrung der Einsaat konnte bei den aufgeführten Alkoholmengen mit unbewaffnetem Auge nicht beobachtet werden. Die Zellen waren bei Abschluss des Versuches nach 3 Monaten in den Kulturen mit den genannten Grenzmengen meist tot, im übrigen aber in einen Ruhe- oder Starrezustand übergegangen.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Formen No. 1 und 3 etwas widerstandsfähiger gegen Alkohol sind, als No. 4 und 7.

Röhling hat für die von ihm untersuchten Apiculatusformen durch Zählung festgestellt, dass in den Kulturen mit 6,22% Alkohol nur mehr eine sehr geringe Vermehrung stattfindet. Die Grenzmenge für die Entwicklungshemmung dürfte damit nahezu erreicht sein; sie liegt also jedenfalls höher, als bei den von uns untersuchten Formen.

Der Versuch sollte gleichzeitig dazu benützt werden, zu erfahren, ob von den Apiculatusformen Alkohol assimiliert wurde. Aus den Wachstumserscheinungen in den Kulturen von No. 4 und 7 wäre im Vergleich mit den Nährlösungen ohne Alkoholzusatz der Schluss zu ziehen gewesen, dass die Gegenwart von Alkohol die Vermehrung, besonders die Bildung einer Oberflächenvegetation begünstige. Die Stärke der Haut nahm sichtlich bis zu 1,64% Alkoholzusatz zu und von da wieder ab. Bei 4,18% ist die Wachstumsgrenze erreicht. Wenn die Hautzellen von No. 4 und 7 in den vorliegenden Kulturen auf Kosten des Alkohols gewachsen wären, wenn sie also Alkohol assimiliert hätten, so müsste dieser in den Kulturen entsprechend abgenommen haben. Wir versuchten durch refraktometrische Bestimmungen des Restalkohols in den Kulturen hierüber Klarheit zu erhalten; das war aber, wie die folgende Tabelle zeigt, nicht zu erreichen. Eine stärkere Abnahme des Alkoholgehaltes trifft wohl im allgemeinen für das Hefenwasser + 5% Maltose zu, nicht aber für Peptonlösung + 5% Maltose. Nachdem für No. 1 und 3 die Grenze für die Vermehrung bei 5,09% Alkohol, für No. 4 und 7 bei 4,18% erreicht ist, müsste mindestens von 4,18% bezw. 2,58% Alkohol ab eine Alkoholabnahme, wenn nur Assimilation und nicht auch Verdunstung in Frage kommt, nicht mehr stattfinden. Dies trifft aber nicht zu.

Ferner ist zu berücksichtigen, dass die Hautbildung, deren Zellen ja den Alkohol in erster Linie in Anspruch nehmen, von 1,64% ab wieder abnahm. Auf diesem Wege liess sich also ein Beweis zwischen stärkerer Vermehrung, besonders Hautbildung und Alkoholassimilation nicht erbringen. Die ganze Basis, auf welcher die Alkoholbestimmung vorgenommen wird, birgt dadurch, dass die Verdunstung sehr wesentlich bei den 3 Monate alten Kulturen mitspricht und offenbar eine sehr unregelmässige ist, grosse Fehlerquellen in sich. Ausserdem ist die notwendige Gegenwart von Maltose hinderlich.

Wenn mit Sicherheit festgestellt werden soll, ob Aethyl-

Verhalten gegen Äthylalkohol.

Restalkohol in Peptonlösung + 5 % Maltose.

Zusatz von Alkohol	Kontrollversuch nach 3 Monaten ohne Impfung	No. 1	No. 3	No. 4	No. 7
0,47 Prozent	0,43 Prozent	0,42 Prozent	0,46 Prozent	0,26 Prozent	0,39 Prozent
0,84 „	0,86 „	0,83 „	0,88 „	0,70 „	0,77 „
1,64 „	1,45 „	1,47 „	1,58 „	1,48 „	1,52 „
2,58 „	2,39 „	2,22 „	2,28 „	2,31 „	2,19 „
4,18 „	3,57 „	3,60 „	3,57 „	3,63 „	3,63 „
5,09 „	5,03 „	4,93 „	4,88 „	4,93 „	4,85 „
7,13 „	6,84 „	6,93 „	6,88 „	6,91 „	6,86 „

Restalkohol in Hefenwasser + 5 % Maltose

0,47 Prozent	0,46 Prozent	0,44 Prozent	0,46 Prozent	0,12 Prozent	0,11 Prozent
0,84 „	0,84 „	0,86 „	0,86 „	0,42 „	0,42 „
1,64 „	1,58 „	1,63 „	1,55 „	0,94 „	1,29 „
2,58 „	2,48 „	2,34 „	2,31 „	2,06 „	2,06 „
4,18 „	3,68 „	3,81 „	3,72 „	3,72 „	3,69 „
5,09 „	5,15 „	5,06 „	5,15 „	4,90 „	5,06 „
7,13 „	7,10 „	7,07 „	7,10 „	7,04 „	7,00 „

alkohol als Kohlenstoffquelle von den Apiculatushefen verwertet werden kann, dann müsste etwa eine mineralische Nährlösung mit Alkoholzusatz verwendet werden, wobei aber zu berücksichtigen ist, dass die Apiculatushefen auf die angegebene Art in mineralischer Nährlösung überhaupt schlecht wachsen. Versuche in der angegebenen Richtung konnten nicht mehr ausgeführt werden.

Die Bildung von Säure ist so gering, dass darauf nicht eingegangen zu werden braucht.

Sichergestellt ist also durch die Versuche, dass Apiculatus No. 1 und 3 unter den gegebenen Verhältnissen widerstandsfähiger gegen Alkohol sind, als No. 4 und 7. Die Assimilation von Alkohol liess sich nicht beweisen, doch ist es sehr wahrscheinlich, dass die Hautbildung von No. 4 und 7 durch die Gegenwart von Alkohol gefördert wurde.

Verhalten gegen verschiedene Stickstoffquellen.

Dieser orientierende Versuch hatte den Zweck festzustellen, ob mineralische oder organische Stickstoffquellen von den Apiculatushefen bevorzugt werden und welche von den organischen Stickstoffquellen wieder die besten Bedingungen für die Apiculatushefen bieten.

Der Versuch wurde folgendermassen angelegt:

Pasteurkolben von 200 ccm Fassungsvermögen wurden mit 100 ccm einer Hansenlösung (Zusammensetzung siehe unter Nährflüssigkeiten) gefüllt, in der die Stickstoffquelle verschiedenen Ursprungs war. Das Pepton, das in der Hansenlösung enthalten ist, wurde sowohl durch Asparagin, als auch durch Ammoniumsulfat ersetzt. Sämtliche stickstoffhaltige Zusätze wurden in Mengen von je 1 bezw. 2 gr. zugegeben. Geimpft wurden die Nährlösungen mit 2 Tage alten in gehopfter Würze + 3% Dextrose bei 25° C herangewachsenen Kulturen.

Nach 4-wöchentlicher Beobachtung war die Entwicklung in allen Kulturen eine mässige mit nur geringen Unterschieden. Am besten entsprach für die Apiculatushefen für die Stickstoffentnahme Pepton; eine etwas ge-

ringere Entwicklung war bei Asparagin zu beobachten, während die geringste Entwicklung bei Ammoniumsulfat zu beobachten war. Auch die Menge der Stickstoffquelle war von Einfluss, denn in den Kolben, die 2 gr. der betreffenden Stickstoffquelle enthielten, war die Entwicklung durchwegs besser als in denjenigen die 1 gr. der Stickstoffquelle enthielten.

Organische Stickstoffquellen scheinen also den Apiculatushefen besser zu entsprechen als mineralische und von ersteren Pepton mehr als Asparagin.

Grenztemperaturen für die Vermehrung.

Unter Grenztemperatur versteht man diejenige Temperatur, bei welcher die in eine Nährlösung eingesäten Zellen keine Vermehrung erfahren, aber noch nicht abgestorben sind.

Die Feststellung der Grenztemperaturen für die Vermehrung geschah im wesentlichen nach den Angaben von Emil Chr. Hansen[1]).

Folgende Nährlösungen wurden verwendet:

Gehopfte Würze + 3% Dextrose, Hefenwasser + 3% Dextrose und Hansen lösung.

Zur Feststellung der oberen Grenztemperatur der Vermehrung wurde in folgender Weise verfahren:

Kräftige in gehopfter Würze + 3% Dextrose bei 25° C während 2 Tagen herangewachsene Kulturen wurden geschüttelt und der Bodensatz in der Nährflüssigkeit verteilt. Von dieser Mischung wurde ein Tropfen in ein Freudenreich-Kölbchen gegeben, welches 10 ccm der Nährlösung enthielt, für welche die Grenztemperatur bestimmt werden sollte. Hefe und Nährlösung wurden gut gemischt. Dieses Kölbchen diente als Impfkölbchen und soll mit I bezeichnet werden. Von I wurden 2 grosse Platinösen in 2 Freudenreich-Kölbchen mit 10 ccm der gleichen sterilen Nährlösung übertragen und wieder möglichst gleichmässig verteilt. Kölbchen II. Von diesem Kölbchen wurden

[1]) Compt. rend. Laborat. Carlsberg 1908, 7, S. 186.

nochmals zwei Platinösen in 2 Freudenreich-Kölbchen übertragen. Kölbchen III.

Massgebend für die Grenztemperatur ist Kölbchen II.

Die Kulturen blieben 14 Tage bei den zu prüfenden Temperaturen stehen und, wenn sich kein Wachstum mehr zeigte, wurden sie bei 25° C aufgestellt, um zu sehen, ob noch Vermehrung stattfand, oder ob alle Zellen nach anfänglich geringer Vermehrung abgetötet waren. Ganz allgemein wurde durch mikroskopische Untersuchung festgestellt, dass bei der stärkeren Einsaat (Kölbchen II) in den bei den verschiedenen höheren Temperaturen gehaltenen Kulturen eine verhältnismässig grosse Anzahl von Zellen am Leben bleibt, die Kulturen infolgedessen auch vielmehr Aussicht haben, den ungünstigen Einfluss, welchen die höheren Temperaturen ausüben, zu überstehen. Bei geringer Einsaat ist die Auslese widerstandsfähiger Zellen sehr dem Zufall anheim gegeben. Es können alle Zellen absterben, bei einer Kultur also keine Vermehrung mehr stattfinden, bei einer anderen aber kann noch Vermehrung eintreten. Nach allen bisher vorliegenden Beobachtungen darf eine gewisse Grenze der Einsaat nicht überschritten werden.

Die Grenztemperaturen liegen für Würze gehopft + 3% Dextrose für No. 1, 3 und 7 bei 35,4° C, für No. 4 dagegen bei 34°. Für Hefenwasser + 3% Dextrose liegen die Grenztemperaturen für alle vier Kulturen bei 34° C und für Hansenlösung für No. 1 bei 35,4° C, während für No. 3,4 und 7 auch bei 34° C.

Während einer 14tägigen Beobachtung fand also bei den angegebenen Temperaturen in keiner der angewendeten Nährlösungen eine äusserlich sichtbare Vermehrung statt. Bei den entscheidenden Versuchen wurde ausser durch mikroskopische Untersuchung die Gegenwart von lebensfähigen, aber unter den gegebenen Verhältnissen nicht vermehrungsfähigen Zellen nach 14 Tagen in der Weise festgestellt, dass die ursprüngliche Nährlösung bis auf einen kleinen Rest abgegossen und durch sterilisierte Würze ersetzt wurde. Die Kulturen wurden zu 25° C

gebracht. Die Kulturen für welche die Grenztemperatur nach den äusseren Erscheinungen bei 35,4° C bestimmt worden war, zeigten Folgendes:

		I	II	III
No. 1.				
Würze gehopft	+ 3% Dextrose	Vermehrung	langs. Vermehrg.	keine Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	schwache „	keine „	„ „
Hansenlösung		langs. „	sehr gering. „	„ „
No. 3.				
Würze gehopft	+ 3% Dextrose	Vermehrung	langs. Vermehrg.	keine Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	langs. „	keine „	„ „
Hansenlösung		keine „	„ „	„ „
No. 4.				
Würze gehopft	+ 3% Dextrose	langs. Vermehrg.	keine Vermehrg.	keine Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	keine „	„ „	„ „
Hansenlösung		langs. „	„ „	„ „
No. 7.				
Würze gehopft	+ 3% Dextrose	langs. Vermehrg.	sehr geringe Vermehrg.	keine Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	keine „	keine „	„ „
Hansenlösung		langs. „	„ „	„ „

Die Kulturen, für welche die Grenztemperatur nach den äusseren Beobachtungen bei 34° C bestimmt worden war, zeigten Folgendes:

		I	II	III
No. 1.				
Würze gehopft	+ 3% Dextrose	Vermehrung	langs. Vermehrg.	keine Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	langs. „	sehr geringe „	„ „
Hansenlösung		„ „	geringe „	„ „
No. 3.				
Würze gehopft	+ 3% De. trose	Vermehrung	langs. Vermehrg.	sehr gering. Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	langs. „	sehr geringe „	keine „
Hansenlösung		„ „	geringe „	„ „
No. 4.				
Würze gehopft	+ 3% Dextrose	Vermehrg.	langs. Vermehrg.	keine Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	geringe „	sehr geringe „	„ „
Hansenlösung		langs. „	geringe „	„ „
No. 7.				
Würze gehopft	+ 3% Dextrose	Vermehrg.	langs. Vermehrg.	keine Vermehrg.
Hefenwasser	+ 3% Dextrose	langs. „	sehr geringe „	„ „
Hansenlösung		„ „	„ „ „	„ „

Die obere Grenztemperatur für die Vermehrung stimmt für Würze als Nährlösung im allgemeinen mit der für die erste Gruppe der Torulaceen überein, für neutrales Hefenwasser liegt sie etwas zu tief.

Die untere Grenztemperatur konnte nicht ermittelt werden, da nur Temperaturen zwischen o-4° C (Hopfen-

konservierungsraum einer Brauerei) zur Verfügung standen. Bei diesen Temperaturen fand aber während einer Beobachtungszeit von 6 Wochen eine Vermehrung in allen wie bei der Ermittelung der oberen Grenztemperatur geimpften Kulturen, wenn auch nur in geringem Umfang, statt.

Einen wesentlichen Einfluss übt die Zusammensetzung der Nährlösung unter den angegebenen Bedingungen auf die Höhe der Grenztemperatur nicht aus, wenn gleich nicht alle verwendeten Nährlösungen gleich günstig für die Erhaltung der Zellen sind und die Widerstandsfähigkeit nicht bei allen Kulturen gleich ist. Es will uns scheinen, als ob die Kulturen No. 4 und 7 etwas weniger widerstandsfähig gegenüber der für die gegebenen Verhältnisse festgelegten Grenztemperatur wären, als No. 1 und 3.

Verhalten gegen organische Säuren.

Der Versuch bezweckte festzustellen, bei welchem Prozentsatz der geprüften Säuren in der verwendeten Nährlösung und unter den gegebenen Temperatur-Verhältnissen die Entwicklung der 4 Apiculatusformen gehemmt wird und ferner, ob die dargebotenen Säuren angegriffen werden, ob also eine Abnahme im Laufe von deren Entwicklung stattfindet.

Schon Müller-Thurgau[1]) hat festgestellt, dass die von den Apiculatushefen in Traubenmost gebildeten fixen organischen Säuren in den Stoffwechsel dieser Hefen gezogen werden. Er hat eine Abnahme der nicht flüchtigen Säuren um 24% sogar um rund 40% festgestellt. Auch in Mischkulturen machte sich die Fähigkeit des Sacch. apiculatus, die Säure stärker anzugreifen, bemerkbar. Ausserdem hat Schukow[2]) nachgewiesen, dass Sacch. apiculatus in einer künstlich zusammengesetzten Nährlösung, die allerdings Wein- und Aepfelsäure zugleich enthielt, grössere Säuremengen verzehrte, als alle übrigen zum Versuch herangezogenen Wein- und Bierhefen.

---

[1]) Müller-Thurgau, H. Jahresbericht der Schweizerischen Versuchsanstalt in Wädenswil f. 1896/97, S. 50.

[2]) a. a. O.

Meissner[1]) zufolge hat Milchsäure in künstlicher Nährlösung durch den Sacch. apiculatus um 1,5% abgenommen. Versuche über die Einwirkung von Apiculatushefen auf organische Säuren, ausgenommen Milchsäure, liegen also bis jetzt nicht vor.

Bei Versuchen über den Abbau von organischen Säuren durch Sacch. Apiculatus ist zu berücksichtigen, dass nach den Untersuchungen von Hansen[2]), besonders aber von Amthor[3]) und Müller Thurgau[4]), sowie von Mach und Portele[5]) auch von Seifert[6]) jene Sprosspilze in Würze, Trauben- und Obstmost ziemlich beträchtliche Mengen von organischen Säuren und zwar sowohl fixer als auch hauptsächlich flüchtiger (Bernsteinsäure, Milchsäure, Essigsäure, Ameisensäure u. a.) zu erzeugen vermögen.

Für unsere Versuche kommt dieses Säurebildungsvermögen kaum in Betracht, weil dabei die gleiche Nährlösung angewendet wurde (Peptonlösung + 5% Maltose), welche bei der Versuchsreihe über die Entwicklungshemmung durch Alkohol und über die Assimilierung von Alkohol benutzt worden war. Die Säurebildung war in jener Nährlösung so gering, dass sie vernachlässigt werden darf.

Auch in Hefenwasser + 6% Maltose entstehen, wie sich aus der Versuchsreihe über die Vergärbarkeit der verschiedenen Zuckerarten ergibt, nur sehr geringe Mengen von Säure.

---

[1]) Meissner R., Bericht der kgl. Weinbau-Versuchs-Anstalt Weinsberg f. d. Jahr 1904, S. 53 und 69.

[2]) Hansen, Emil Chr., Meddelelser Carlsberg Laborat., Bd. 1, 1881, S. 314.

[3]) Amthor, K. Zeitschr. physiol. Chemie 1888, Bd. 12, S. 558.

[4]) a. a. O.

[5]) Mach E. und Portele K. Ueaer die Gärung von Trauben und Apfelmost mit versch. reingez. Hefenarten. Die Landwirtschaftl. Versuchsstationen Bd. 41, 1892, S. 233.

[6]) Seifert, W. Zeitschrift f. Nahrungsmittel-Untersuch. 1893, Bd. 7, S. 148.

Wir prüften Wein-, Zitronen-, Aepfel-, Bernstein-, Milch- und Essigsäure.

Der Versuch wurde in folgender Weise durchgeführt: 10 ccm Peptonlösung + 5% Maltose, welche in Freudenreich-Kölbchen abgefüllt waren, erhielten Zusätze von 0.2, 0.4, 0.7, 1, 2, 3 und 5% der betreffenden Säure. Nach Säurezusatz sterilisiert.

Der Aciditätsgrad der einzelnen Lösungen wurde durch Titration mittels n/10 Natron-Lauge festgestellt. Nach Beimpfung der Lösungen mit kräftigen Kulturen der Sacch. Apiculatusformen, welche in Würze mit 3% Dextrosezusatz bei 25° C während 2 Tage herangezüchtet worden waren, blieb der Versuch bei einer Temperatur von 18° C im Laboratorium während 2 Monate stehen.

Die hauptsächlichsten Erscheinungen beim Wachstum der Kulturen wurden schon früher angegeben.

Bei Abschluss des Versuches wurden die Lösungen wieder mit n/10 Natronlauge titriert, ausgenommen die mit 5% Säurezusatz, da in diesen Lösungen schon nach einigen Tagen die Zellen der Einsaat aller 4 Apiculatusformen sichtlich abgetötet waren. Der ganze Inhalt (10 ccm) wurde zur Titration verwendet.

Der Grenzwert für die Entwicklungshemmung liegt, Essigsäure ausgenommen, für alle 4 Kulturen zwischen 3 und 5% Säure, denn bei 3% waren nach 2 Monaten noch in allen Kulturen lebende Zellen in grösserer Zahl vorhanden, während bei 5%, wie angegeben, schon nach wenigen Tagen die Zellen der Einsaat unter den gegebenen Bedingungen abgetötet waren. Bei Essigsäure liegt der Grenzwert für die Entwicklungsfähigkeit niedriger; schon bei 3% Säurezusatz war die Mehrzahl der Zellen tot.

In der folgenden Tabelle ist die Anzahl der Kubikcentimeter n/10 Natronlauge angegeben, welche bei Abschluss des Versuches bei Titrierung der ganzen Lösung mit Säurezusatz in den einzelnen Kulturen zur Neutralisation nötig waren.

Bemerkt sei, dass die mit den 4 Apiculatusformen geimpfte Lösung ohne Säurezusatz unter den gleichen Bedingungen wie nach dem Säurezusatz zur Neutralisierung nur 0.8 ccm n/10 Natronlauge beanspruchte.

Siehe Tabelle Seite 141.

Aus der Zusammenstellung geht zunächst wieder hervor, dass die Entwicklungshemmung der 4 Organismen bei den früher angegebenen Grenzwerten liegt, denn diese fallen mit den Grenzwerten, bei welchen Assimilation der geprüften Säuren stattfindet, zusammen. Ferner ergibt sich, dass in allen Kulturen, selbst in denjenigen mit Zusatz von Essigsäure, eine ziemlich kräftige, in einzelnen Fällen eine sehr bedeutende Säureassimilation sogar bei den Säuremengen, welche den Grenzwerten nahe liegen, stattgefunden hat. Die Minderabnahme der Acidität bei den Lösungen mit dem höchsten Essigsäurezusatz gegenüber der durchschnittlichen Abnahme bei dem höchsten Zusatz der anderen Säuren bewegt sich bei den 4 Organismen zwischen 8 und 11 ccm n/10 Natronlauge. Die Abnahme der ursprünglichen Acidität bewegt sich bei Essigsäure zwischen 35 und 44 ccm n/10 Natronlauge. Die durchschnittliche Abnahme der übrigen Säuren bei dem Höchstzusatz gegenüber der ursprünglichen Acidität bewegt sich dagegen zwischen 44 und 47 n/10 Natronlauge.

Bemerkenswert erscheint, dass bei den geringen Säurezusätzen die Acidität selbst nach 2 monatlicher Versuchsdauer nicht vollständig verschwunden war.

Die Unterschiede der Abnahme der einzelnen Säuren bei jedem der 4 Organismen sind so gering, dass diagnostische Merkmale für die Einzelorganismen nicht abgeleitet werden können.

Zusammenfassung.

Nach den vorliegenden Untersuchungen ergeben sich für die 4 Apiculatusformen folgende gemeinsame und unterscheidende Merkmale:

Peptonlösung + 5% Maltose mit Säurezusatz

Kontrollversuch ohne Impfung

No.	Säure-Znsatz	Weinsäure	Zitronensäure	Äpfelsäure	Bernsteinsäure	Milchsäure	Essigsäure
	0,2%	8,2	9,4	8,6	9,6	8,0	9,0
	0,4	14,2	13,6	14,6	15,0	14,4	13,6
	0,7	17,4	18,2	18,4	18,8	17,2	17,0
	1,0	24,4	25,2	23,9	24,0	23,8	24,8
	2,0	36,4	36,9	35,8	37,2	35,4	36,6
	3,0	56,8	55,8	57,2	55,6	56,4	55,8
		Acidität in den geimpften Lösungen nach 2 Monaten					
1	0,2%	7,3	6,8	7,2	6,9	6,5	8,0
	0,4	7,7	7,2	7,4	7,3	8,4	8,8
	0,7	8,1	7,9	8,7	8,6	8,5	9,7
	1,0	8,0	8,1	8,1	8,5	9,0	10,9
	2,0	9,4	9,5	8,5	9,2	10,1	15,1
	3,0	10,9	11,2	11,1	11,0	11,9	19,0
3	0,1%	7,7	7,5	7,3	8,0	8,2	7,3
	0,4	8,0	7,7	7,3	8,0	8,1	8,6
	0,7	8,1	8,1	8,3	8,4	8,5	10,6
	1,0	8,5	8,3	8,5	8,7	8,9	11,6
	2,0	10,5	9,5	10,1	9,1	9,9	14,6
	3,0	11,2	10,9	11,8	11,4	8,2	20,9
4	0,2%	7,7	6,5	7,6	7,0	8,0	7,5
	0,4	7,3	7,2	7,6	7,1	8,2	7,2
	0,7	8,3	7,3	7,7	7,1	8,5	7,1
	1,0	8,3	7,6	7,7	8,2	8,9	7,6
	2,0	9,9	7,6	7,9	9,4	9,7	16,2
	3,0	11,1	7,9	9,2	11,2	11,1	20,8
7	0,2%	7,8	7,4	7,6	7,3	7,9	8,0
	0,4	7,0	7,4	7,8	7,5	8,4	8,0
	0,7	8,3	7,4	7,6	7,7	9,0	9,0
	1,0	8,5	7,4	7 3	8,1	8,9	10,0
	2,0	9,9	8,2	8,3	10,2	10,3	13,8
	3,0	11,3	8,2	9,4	12,4	11,6	18,5

Sporenbildung wurde bei keiner der 4 Formen unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen beobachtet.

Die Form und die Grösse der Zellen unterliegt den mannigfachsten Variationen. Sie ist teilweise von der Temperatur, von der Ernährung und, damit im Zusammenhang stehend, von dem Alter der Kulturen abhängig.

In allen Kulturen treten ziemlich gleichmässig dieselben Zellformen auf. Unter günstigen Ernährungsbedingungen sind in allen Kulturen zitronenförmige Zellen vorherrschend. Diese Grundform variiert innerhalb gewisser Grenzen, insofern, als die Zuspitzung mehr oder weniger deutlich hervortritt, ausserdem die Zellen bald schlanker, bald mehr ausgebaucht erscheinen. Sehr charakteristisch sind weitausgebauchte Zellen mit einer grossen Vakuole. Neben den zitronenförmigen Zellen treten kugelrunde, ovale, eiförmige und spitzeiförmige in allen Kulturen und meist in grösserer Zahl auf. In jüngeren Kulturen sind langgestreckte, wurstförmige Zellen mit noch erkennbarer Zuspitzung an den Enden selten, in älteren häufig. In diesen entstehen auch längliche, spindelförmige und kurzfadenförmige Zellen.

Die Grösse der Zellen variiert zwischen zwei μ und 8—9 μ Länge; durchschnittliche Länge 6—7 μ, Breite 2—3 μ. Einzelne Zellen bis 18 μ: 6 μ. Riesenzellen ziemlich selten, bei No. 4 häufiger. Unterschiede in der Zellform überhaupt und in der Häufigkeit bestimmter Zellformen, sowie Unterschiede in der Zellgrösse bei verschiedenen Temperaturen waren bei den 4 Apiculatusformen nicht zu beobachten.

Zellinhalt im Vergleich zu demjenigen der Saccharomyceten schwach lichtbrechend; kein Glycogen. In gut ernährten jüngeren Zellen meist 2 Granula (Osmiumsäurereaktion), bei zitronenförmigen Zellen in den beiden Zuspitzungen der Zellen, im Plasma eingelagert; häufiger nur 1 Granulum.

Bei der Sprossung spitzen sich ovale Zellen zu. Die Tochterzellenanlage erscheint zunächst als kugelförmige Anschwellung der Spitze der zitronenförmigen Zellen. Hat

die Tochterzelle ungefähr $^1/_3$ der Grösse der Mutterzelle erreicht, so entsteht zwischen beiden eine Querwand. Die Tochterzelle sitzt anfangs der Mutterzelle mit breiter Basis auf; bei weiterem Wachstum verjüngt sie sich nach der Berührungsstelle von Mutter- und Tochterzelle. Sobald die Tochterzelle eine bestimmte Grösse erreicht hat (ungefähr die Hälfte der Grösse der Mutterzelle), so sprosst sowohl Mutter- wie Tochterzelle an den beiden entgegengesetzten Enden weiter. Wenn die jüngsten Tochterzellen eine bestimmte Grösse erreicht haben, knickt die erste Tochterzelle innerhalb weniger Sekunden um und steht nun fast senkrecht zur Mutterzelle. Die Zellen, die vorher mit breiter Basis einander aufsassen, spitzen sich nach einigen Minuten zu und bilden dann wieder eine abgerundete Ausstülpung, (Tochterzellanlage). Sprossung also in Reihen (ohne seitliche Verzweigung). Niemals mehr Zellen im Sprossverband als vier.

Kolonien in Tröpfchenkulturen.

Bei No. 1 und 3 diffus, die einzelnen Zellen weit auseinanderliegend (Schleimbildung), Umgrenzungslinie sehr regelmässig. Zellen in der Mitte der Kolonien meist zitronenförmig, an der Peripherie oval. Bei No. 4 und 7 Kolonien unregelmässig, kompakt, Zellen dicht aneinander gelagert und gleichmässig in der Kolonie verteilt. Alle Zellformen ausser den lang-gestreckten. Bei No. 4 häufig Riesenzellen, die bei No. 7 fehlen.

Die Wachstumserscheinungen in grösseren Mengen der Flüssigkeiten haben zu folgenden Schlussfolgerungen geführt:

1. Abstufung des Vermehrungsvermögen; am stärksten ist es unter den gegebenen Bedingungen bei No. 4, dann folgen No. 7, 1 und 3.

2. Abstufung in der Entwicklung einer Oberflächenvegetation; am stärksten ist sie bei No. 4, dann folgen wieder No. 7, 1 und 3.

3. No. 4 und 7 einerseits und No. 1 und 3 andererseits stehen hinsichtlich des Vermehrungsvermögens und

der Entwicklung einer Oberflächenvegetation (Haut) einander näher. In keinen Fall kam es zu einer geschlossenen Haut. Die Haut ist grau gefärbt, dünn und fällt sehr leicht zu Boden. Hautbildung unterblieb in einer sehr grossen Anzahl von Lösungen.

Günstig für die Vermehrung sind ungehopfte und gehopfte Würze, wenngleich jene durch die Hopfung bis zu einem gewissen Grad gehemmt wird. Dextrosezusatz fördert besonders die Entwicklung einer Oberflächenvegetation. Saccharose, Milchzucker und Raffinose üben einen merklichen Einfluss auf die Vermehrung nicht aus. Auch im Traubenmost und im Bier ist die Vermehrung gut. Hefenwasser ist ein schlechter Nährboden, wird aber durch Zusatz von Dextrose, Lävulose, Galactose und Maltose verbessert. Zusatz von Pepton, Saccharose, Milchzucker fördert die Vermehrung nicht. Ungeeignet als Nährlösung ist mineralische Nährlösung mit Rohrzucker und Asparagin (Hayducks Nährlösung) und Milch. Eine Bevorzugung einer der verwendeten Nährlösungen durch eine der 4 Apiculatushefen war nicht ersichtlich. Die Bodensätze absorbieren aus den Nährlösungen färbende Substanzen; in dunkler gefärbten sind jene braun in verschiedener Abstufung, in einzelnen Fällen fast schwarz. Eine sichtbare Entfärbung der Nährlösung, insbesondere von Most- und Bierwürze, trat nicht ein. Die Beschaffenheit der Bodensätze ist verschieden, (teils locker, flockig, teils kompakt und dann leicht- oder schwerflüssig, teils auch festsitzend oder anfangs locker und dann festsitzend), aber nicht konstant. Diagnostische Merkmale für die einzelnen Formen sind aus jenen nach unseren Beobachtungen nicht abzuleiten, immerhin erscheint die Beschaffenheit der Bodensätze für die Charakterisierung des Formenkreises überhaupt im Vergleiche zu anderen Gruppen von Sprosspilzen ohne Sporenbildung beachtenswert.

Einzellkolonien auf festen Nährböden. Wachstumtypus 1. Hinsichtlich der Dichte besteht Uebereinstimmung mit den Kolonien in den Tröpfchenkulturen. Zellen in den Kolonien von No. 4 und 7 ungleichmässig verteilt.

Die Riesenkolonien sind durch die Einfachheit des Oberflächenbelages und durch Anhänge auf der Unterseite sehr scharf charakterisiert. Für sie muss entweder überhaupt eine neue Grundform oder eine neue Unterabteilung der zweiten Grundform aufgestellt werden. 2 Arten von Riesenkolonien: Bei No. 1 und 3 Oberflächenbelag mehr oder weniger flach ausgebreitet, bei No. 4 und 7 schon im frühen Alter schalenförmig vertieft. Riesenkolonien der ersten Art kräftiger entwickelt als diejenigen der zweiten; bei jenen einzelne Sektoren stärker entwickelt. Die Riesenkolonien von No. 4 und 7 verflüssigen die Gelatine viel rascher als diejenigen von No. 1 und 3 und zwar verflüssigt No. 4 frühzeitiger als No. 7. Hefenwasser-Gelatine und die aus Pflanzensäften hergestellte Gelatine wird rascher verflüssigt als Würze- und Mostgelatine.

In Stichkulturen und bei gleichmässiger Verteilung der Zellen in der Gelatine ist im allgemeinen das Verflüssigungsvermögen gering. In den für die Entwicklung günstigen Nährböden tritt im allgemeinen keine Verflüssigung ein, oder diese ist langsamer. No. 4 und 7 verflüssigen hier wieder rascher, als No. 1 und 3. No. 4 und 7 sind gegen Sauerstoffentzug empfindlicher als No. 1 und 3. Bei No. 3 werden in den Stichkulturen in der Regel die anfangs regelmässigen Kolonien später durch Auswachsen unregelmässig.

Vergoren wird Dextrose, Lävulose und Galaktose (?), in geringen Mengen auch Maltose.

Gegen Alkohol ist No. 1 und 3 widerstandsfähiger als No. 4 und 7. Bei ersteren liegt der Grenzwert für die Vermehrung bei 5%, bei letzteren bei 4% Alkohol. Die Assimilation von Alkohol liess sich nicht beweisen, doch wird wahrscheinlich die Entwicklung einer Oberflächenvegetation bei No. 4 und 7 durch die Gegenwart von Alkohol befördert.

Die Grenztemperatur nach oben für das Wachstum ist zwar bei verschiedenen Nährlösungen etwas verschieden, liegt aber im allgemeinen für No. 1

und 3 bei 35° C, für No. 4 und 7 bei 34° C. Bei 0 bis 4° C fand in allen Fällen noch eine Vermehrung statt.

Organische Säuren (Weinsäure, Zitronensäure, Aepfelsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure und Essigsäure) werden ziemlich kräftig, in einzelnen Fällen sehr kräftig assimiliert. Die Unterschiede in der Abnahme der einzelnen Säuren bei jeden der Organismen sind so gering, dass diagnostische Merkmale für die Einzelorganismen nicht abgeleitet werden können. Der Grenzwert für die Entwicklungshemmung durch die organischen Säuren, ausgenommen Essigsäure, liegt für alle Kulturen zwischen 3 und 5 % Säure; bei Essigsäure liegt er niedriger; bei 3 % war schon die Mehrzahl der Zellen tot.

Schon wiederholt ist in der Zusammenfassung darauf hingewiesen worden, dass die 4 untersuchten Apiculatusformen ausser den allgemeinen, allen zukommenden Merkmalen, auch solche besitzen, durch welche Sie sich von einander unterscheiden. Ebenso wurde schon angedeutet, dass sich die 4 Formen recht wohl in 2 Gruppen sondern lassen. So stehen sich die Form No. 1 und 3 einerseits und No. 4 und 7 andererseits einander näher. Wenngleich zwischen den einzelnen Gliedern der beiden Gruppen selbst wieder Unterschiede bestehen, wie beispielsweise das Vorkommen von Riesenzellen eine etwas stärkere Abstufung in der Vermehrung u.s.w., so sind doch diese Unterschiede so gering, dass sie unserer Meinung nach, gegenüber den übrigen sie scharf trennenden Merkmalen, besonders hinsichtlich der Form der Riesenkolonien kaum von einander geschieden werden können.

Im folgenden sind die Merkmale, durch welche die beiden Gruppen von Apiculatusformen sich schärfer unterscheiden, einander gegenüber gestellt. Jedenfalls berechtigen Sie zu der vorgenommenen Gruppenbildung und zu der Annahme, dass die beiden Gruppen mindestens Vertreter verschiedener Varietäten, wenn nicht sogar Arten vorliegen.

Gegenüberstellung.

No. 1 und 3.

Tröpfchenkultur: Einzellkolonien diffus, die einzelnen Zellen weit auseinander liegend (Schleimbildung). Zellen in der Mitte der Kolonie meist zitronenförmig, an der Peripherie oval. Umgrenzung sehr regelmässig.

Vermehrungsvermögen in Nährflüssigkeiten: Geringer als bei No. 4 und 7.

Oberflächenvegetation: Schwächer; durch die Gegenwart von Alkohol nicht ersichtlich gefördert.

Einzellkolonien auf festen Nährboden: Dichte Uebereinstimmung mit Einzellkolonien in Tröpfchenkulturen.

Riesenkolonien: Oberflächenbelag mehr oder weniger flach ausgebreitet, kräftiger entwickelt als bei No. 4 und 7, einzelne Sektoren stärker entwickelt.

Verflüssigung der Gelatine durch die Riesenkolonien später als bei No. 4 und 7.

Verflüssigung in Stichkulturen und bei gleichmässiger Verteilung wie bei den Riesenkolonien.

Empfindlichkeit gegen Sauerstoffentzug: gering.

Verhalten gegen Alkohol: Grenzwert für die Entwicklung 5% .

Grenzwert für das Wachstum: 35° C.

No. 4 und 7.

Tröpfchenkulturen: Einzellkolonien kompakt, Zellen dicht aneinander gelagert, ungleichmässig in der Kolonie verteilt. Alle Zellformen ausser langgestreckten.

Vermehrungsvermögen in Nährflüssigkeiten: Stärker als bei No. 1 und 3. Wächst in einer grösseren Anzahl von Nährlösungen als No. 1 und 3.

Oberflächenvegetation: Frühzeitig ausgedehnt und stark entwickelt, durch die Gegenwart von Alkohol gefördert. No. 4 unterscheidet sich durch Hautbildung wesentlich von No. 7.

Einzellkolonien auf festen Nährböden: Dichte Uebereinstimmung mit den Einzellkolonien in Tröpfchenkulturen. Zellen in der Kolonie ungleichmässig verteilt.

Riesenkolonien: Oberflächenbelag schalenförmig vertieft, weniger kräftig entwickelt als bei No. 1 und 3.

Verflüssigung der Gelatine durch die Riesenkolonien rascher als bei No, 1 und 3, und zwar bei No. 4 frühzeitiger als bei No. 7.

Verflüssigung in Stichkulturen und bei gleichmässiger Verteilung wie bei Riesenkolonien.

Empfindlichkeit gegen Sauerstoffentzug: Stärker als bei No. 1 und 3.

Verhalten gegen Alkohol: Grenzwert für die Entwicklung 4% Alkohol.

Grenzwert für das Wachstum. 34° C. No. 4 Riesenzellen häufig, fehlen bei No. 7.

Zikes[1]) benennt einem Vorschlag von P. Lindner folgend die Gruppe der nichtsporenbildenden Apiculatushefen mit dem Namen HANSENIA, während er die sporenbildende Gruppe mit dem Namen HANSENIASPORA bezeichnet. Klöcker[2]) macht jedoch darauf aufmerksam, dass der Name Hansenia schon im Jahre 1883 von Zopf[3]) für eine andere Pilzgattung vergeben worden sei. Klöcker stellt daher für die nichtsporenbildenden Apiculatushefen den neuen Gattungsnamen PSEUDOSACCHAROMYCES auf. Wir schliessen uns um die Nomenclatur nicht noch mehr zu verwirren vorläufig dieser Bezeichnung an und benennen einstweilen die Vertreter der beiden von uns untersuchten Gruppen nach ihrem Fundort als Pseudosaccharomyces cerevisiae (No. 1 und 3) und als Pseudosacch. vini (No. 4 und 7).

Ein Vergleich mit den von Klöcker beschriebenen Apiculatusformen ist z. Zt. nicht möglich, da in der vorliegenden Mitteilung, der erst später eine umfassendere in den Mitteilungen des Carlsberg Laboratoriums folgen soll, einerseits noch manche Vergleichspunkte, hauptsächlich Angaben über die Form und den Aufbau der Riesenkolonien, auf welche wir grosses Gewicht legen, fehlen, andererseits bei unseren Untersuchungen die Lebensgrenze bei Erwärmung nicht berücksichtigt wurde. Ferner bestehen Meinungsverschiedenheiten hinsichtlich des diagnostischen Wertes der Bodensätze.

[1]) Zikes, H., zur Nomenclatur der Apiculatushefen. Centralbl. Bakteriol., Abt. II, Band 30, 1911, S. 148.

[2]) Klöcker, A. Centralbl. Bakteriol. Abt. II Bd. 35, 1912, S. 377.

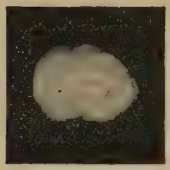
[3]) Zopf, zur Kenntnis der anatomischen Anpassung der Pilzfrüchte an der Funktion der Sporenentleerung. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 56, 1883, S. 539.

Erklärung der Tafel.

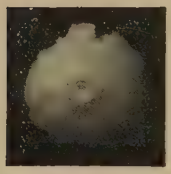
1. Form 1 auf Würzegelatine ungehopft (18°), Alter 118 Tage.
2. Form 3 auf Würzegelatine ungehopft (18°), Alter 118 Tage.
3. Form 4 auf Würzegelatine ungehopft (18°).
4. Form 7 auf Würzegelatine gehopft (18°), Alter 35 Tage.
5. Form 1 auf Würzegelatine ungehopft + 3% Dextrose (6°), Alter 90 Tage.
6. Form 3 auf Würzegelatine ungehopft (6°).
7. Form 4 auf Würzegelatine ungehopft (6°), Alter 55 Tage.
8. Form 7 auf Würzegelatine gehopft + 3% Sacch. (14°), Alter 89 Tage.
9. Form 1 auf Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose (18°).
10. Form 3 auf Würzegelatine gehopft + 3% Dextrose (14°), Alter 83 Tage.
11. Form 1 auf Hefenwassergelatine + 3% Dextrose (14°).
12. Form 3 auf Hefenwassergelatine + 3% Dextrose (18°), Alter 55 Tage.
13. Form 3 auf Hefenwassergelatine + 3% Dextrose (6°).
14. Form 1 auf Weisskrautwassergelatine (6°).
15. Form 3 auf Weisskrautwassergelatine (6°), Alter 90 Tage.
16. Form 3 auf Kartoffelwassergelatine (14°), Alter 86 Tage.
17. Form 7 hergezüchtet in Most (25°), Alter 13 Tage.

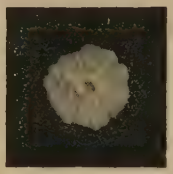
1

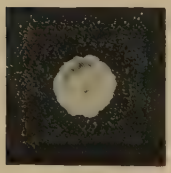
2


5

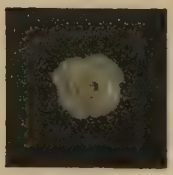
6

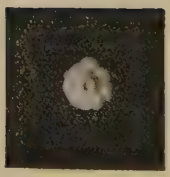

9

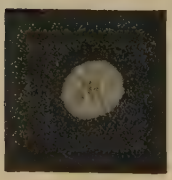

10

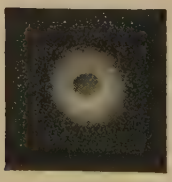

11

12

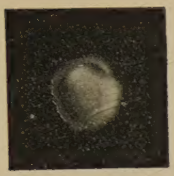

13


14

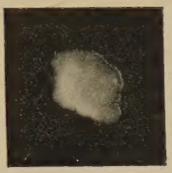

15


16

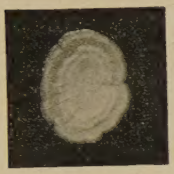
3



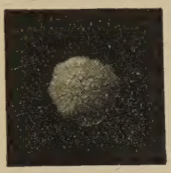
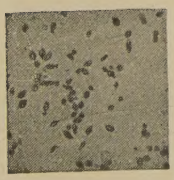
4



7



8



17